

**ZEITGEMASSE SEROLOGIE
DES RHEUMATISCHEN FIEBERS UND
DER GLOMERULONEPHRITIS**

Josef Friedrich

1976



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41555611_0065

AUS DER KINDERPOLIKLINIK DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN
(Direktor: Professor Dr. H. Spiess)

ZEITGEMÄSSE SEROLOGIE DES RHEUMATISCHEN FIEBERS UND
DER GLOMERULONEPHRITIS

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Josef F r i e d r i c h
aus
Feuerschwendt

München 1976

Mit Genehmigung der Universität München

Berichterstatter	: Professor Dr. H. Spiess
Mitberichterstatter	: Professor Dr. E. Buchborn
Dekan	: Professor Dr. W. Spann
Tag der mündlichen Prüfung : 15.6.76	



I. VORWORT

A. ALLGEMEIN

1. Einleitung	1
2. Die Bedeutung der Arbeit	2
3. Die Aufgaben der Arbeit	3
4. Die Bedeutung der Arbeit für die Gesellschaft	4
5. Die Bedeutung der Arbeit für den Einzelnen	5
6. Die Bedeutung der Arbeit für die Nation	6

B. BESONDERES

1. Die Arbeit des Einzelnen

a. Die Arbeit des Einzelnen im allgemeinen	7
b. Die Arbeit des Einzelnen im besonderen	8
c. Die Arbeit des Einzelnen im einzelnen	9

Meinen lieben Eltern gewidmet

2. Die Arbeit der Familie	10
a. Die Arbeit der Familie im allgemeinen	11
b. Die Arbeit der Familie im besonderen	12
c. Die Arbeit der Familie im einzelnen	13

II. Die Arbeit der Nation

1. Die Arbeit der Nation im allgemeinen	14
a. Die Arbeit der Nation im besonderen	15
b. Die Arbeit der Nation im einzelnen	16

INHALTSVERZEICHNIS

Seite

A. EINLEITUNG UND FRAGESTELLUNG	1
---------------------------------	---

B. METHODIK

1. Literaturstudium und Untersuchungsmaterial	3
2. Der Streptozyme-Test	4
3. Die Latex-ASL-Reaktion	7
4. Die Antistreptokinase-Reaktion	9
5. Die Anti-NAD-ase-Reaktion	17
6. Antistreptolysinbestimmung mit Mikromethode	21

C. ERGEBNISSE

I. Aus Literaturstudium

1. Entstehung von Streptokokkennachkrankheiten	27
2. Häufigkeit von Streptokokkennachkrankheiten	30
3. Ursachen für den Rückgang des rheumatischen Fiebers	33
4. Penicillin zur Prophylaxe von Streptokokkennachkrankheiten	35
5. Bewertung der Serologie in der Diagnose des rheumatischen Fiebers	36
6. Labormethoden zur Prophylaxe und Diagnose Streptokokkennachkrankheiten	38

II. Aus eigenen Versuchen

1. Vergleich zwischen Latex-ASL- und Streptozyme-Test	43
2. Falsch negative Ergebnisse im Streptozyme-Test	45
3. Falsch positive Ergebnisse im Streptozyme- und Latex-ASL-Test	47

D. DISKUSSION

1. Sind die Voraussetzungen für die Entstehung von Streptokokkennachkrankheiten noch gegeben? 48
2. Ist ein Rückgang der abgeschwächt verlaufenen Streptokokkenfolgekrankheiten festzustellen? 48
3. Welche Möglichkeiten der Prophylaxe von Streptokokkennachkrankheiten gibt es? 49
4. Wie ist der neue Streptozyme-Test zu bewerten? 53
5. Welche Schwierigkeiten standen der Neueinführung von Alternativreaktionen zum ASL-Test entgegen? 55

E. ZUSAMMENFASSUNG 59

F. LITERATURVERZEICHNIS 60

ABKÜRZUNGEN

ADH	Alkoholdehydrogenase
AG	Antigen
ANAD-ase	Anti-Nikotinamid-Adenin-Dinukleoidase
AK	Antikörper
ASE	Antistreptolysineinheit(en)
ASK	Antistreptokinase
ASL	Antistreptolysin
ASR	Antistreptolysinreaktion
DNA	Desoxyribonukleinsäure
GN	Glomerulonephritis
häm.-A-Str.	Hämolysierende Streptokokken der Gruppe A
NAD	Nikotinamid-Adenin-Dinukleodid
PP	Proaktivator Plasminogen
q. s.	quantum satis
rh. F.	rheumatisches Fieber
SK	Streptokinase
SLO	Streptolysin-O
SZ	Streptozyyme

A. EINLEITUNG UND FRAGESTELLUNG

Infektionen mit β -hämolysierenden Streptokokken der Gruppe A können nach einer bestimmten Latenzzeit Nachkrankheiten, nämlich rh. F. und GN, zur Folge haben, die durch rechtzeitige Diagnose und Therapie der Infektion verhindert werden müssen. Durch Streptokokken verursachte Krankheiten wie Scharlach, Angina und einige Hautkrankheiten (Impetigo, Erysipel, Phlegmone u.a.) sind an den typischen Befunden meist leicht zu erkennen. Schwieriger zu beurteilen ist die Situation bei Verdacht auf eine unbehandelt abgelaufene Streptokokkeninfektion oder Krankheit. Ein bakteriologischer Abstrich ist dabei zu unsicher, um als Entscheidungshilfe für eine Penicillintherapie zu dienen (21). Diese ist immer dann nötig, wenn es sich um eine frische immunologische Auseinandersetzung mit dem häm.-A-Str. handelt, oder wenn bereits der Verdacht auf eine Streptokokkenfolgekrankheit besteht. Bei einer durch Streptokokken verursachten Infektion, Krankheit oder Folgekrankheit kommt es zu einer signifikanten Titerbewegung der Ak gegen die von den Streptokokken produzierten Exoenzyme: SL-O, NAD-ase, DNA-ase A,B,C,D und Hyaluronidase. Dieser Befund erlaubt eine Unterscheidung von Streptokokkenträgern und Infizierten und erleichtert damit die Entscheidung über eine kürzere oder längere antibiotische Therapie. Da es wichtig ist eine Streptokokkeninfektion zu erkennen, bevor es zu den Folgekrankheiten kommt, müssen die serologischen Tests sicher und einfach sein, damit überhaupt von ihnen Gebrauch gemacht wird. Es stellt sich die Frage, ob die bei uns heute genutzten Reaktionen, wie Latex-ASL und ASL-Hämolyse-Test der heutigen Situation gerecht werden, oder ob neuere einfachere Verfahren eingeführt werden sollten. Dafür

müssen zuvor weitere Fragen beantwortet werden:

1. Wie häufig sind heute Streptokokkenträger und Streptokokkenkrankheiten und in welchem Prozentsatz kommt es zu Folgekrankheiten?
2. Wie häufig sind Streptokokkenfolgekrankheiten? Ist das rh. F. tatsächlich seltener geworden, oder verläuft es nur atypisch und wird deshalb häufig verkannt?
3. Welche Ursache gibt es für den Rückgang schwerer Fälle des rh. F.?
4. Kann man auf neuere serologische Verfahren zugunsten einer noch häufigeren Penicillinanwendung verzichten?
5. Ist die heute übliche starke Bewertung der Serologie in der Diagnostik des rh. F. gerechtfertigt ohne zusätzliche Erweiterung des Antikörperspektrums?
6. Hat sich in anderen Ländern eine erweiterte Serologie zur Prophylaxe und Differentialdiagnose rheumatischer Erkrankungen bewährt und welche Reaktionen kommen dazu in Frage?

Falls sich an Hand des Schrifttums beweisen ließe, daß die epidemiologische Situation heute ein einfaches, aber auch sicheres serologisches Verfahren erfordert, ergäbe sich die Konsequenz der Erprobung eines solchen vereinfachten Tests im Vergleich mit mehreren bisher bewährten Verfahren.

Zuletzt soll die spezielle Frage der Eignung eines neuen serologischen Test aus den USA für die Diagnose von Streptokokkeninfektionen in der Pädiatrie geklärt werden. Hier liegt das Schwergewicht auf der Prophylaxe, deswegen muß der Test besondere Vorzüge haben.

B. METHODIK

1. Literaturstudium und Untersuchungsmaterial

Zunächst wurde versucht, an Hand der Literatur die Frage zu klären, ob die Voraussetzungen für eine Verbesserung der Serologie zur Prophylaxe und Diagnostik von Streptokokkennachkrankheiten gegeben sind. Danach wurden insgesamt 403 Seren mit dem Streptozyme-Test (einem neuen Schnelltest aus den USA) und dem Latex-ASL-Test untersucht. 100 Seren, die aus dem Krankengut der Kinderpoliklinik stammten, wurden in der Zeit von Ende November 1972 bis Mitte Februar 1973 gesammelt. Die restlichen Seren erhielten wir freundlicherweise vom Max-v.-Pettenkofer-Institut, die sich folgendermaßen zusammensetzten: 100 Seren von normalen Erwachsenen, die zur serologischen Untersuchung eingeschickt worden waren; 100 Seren, die mit der Diagnose "Verdacht auf einen rheumatischen Prozeß" eingeschickt worden waren, bei denen aber der Latex-Test negativ war; 103 Seren mit einem ASL-Titer zwischen 100 und 1 600 I.E./ml. Von diesen 103 Seren wurden 37 mit dem Latex- und Streptozyme-Test geprüft, bei den übrigen 66 Seren wurde zusätzlich noch der ASK- und ANAD-ase-Titer bestimmt.

Diejenigen Seren, bei denen der Latex-Test negativ, aber der Streptozyme-Test positiv war, wurden auch noch dem ASK- und ANAD-ase-Test zugeführt, wenn dazu noch genügend Serum vorhanden war. Dies war insgesamt 59 mal möglich. Bei einigen dieser Diskrepanzseren konnte auch noch der ASL-Titer bestimmt werden.

Alle Seren wurden eingefroren und erst kurz vor den Bestimmungen aufgetaut. Es zeigte sich dabei, daß es auch durch zweimaliges Einfrieren und Auftauen zu keinem Titerabfall kommt.

2. Der Streptozyme-Test

Streptozyme ist ein Objektträger-Schnelltest mit konservierten Hammelerythrozyten, die fünf verschiedene Streptokokken-Exoenzyme (SLO, SK, Hyaluronidase, DNA-ase, NAD-ase) tragen und monatelang haltbar sind. Dieser Test hat gegenüber den bisher üblichen Verfahren den Vorteil, daß er auch mit Kapillarblut durchgeführt werden kann und daß er fünf verschiedene Streptokokken-Antikörper erfaßt. Wie bei der Latex-ASL-Reaktion stören auch beim Streptozyme-Test, bakterielle Verunreinigung (Hämolysine), Cholesterin und Betalipoproteine nicht (13).

Prinzip: Der Streptozyme - Test beruht auf einer indirekten Hämagglutination der mit Streptokokken-Exoenzymen beladenen Hammelerythrozyten durch Antikörper gegen diese Exoenzyme.

Wird ein Tropfen verdünntes Vollblut (1:50) bzw. Serum (1:100) mit einem Tropfen Testerythrozytensuspension vermischt, so kommt es nach ein bis zwei Minuten zu einer Agglutination, wenn der ASL-Gehalt größer als 166 I.E./ml ist. Seren mit einem Antikörpergehalt gegen die anderen Exoenzyme, der über dem jeweiligen Durchschnittswert von Normalpersonen liegt, reagieren auch bei fehlenden Anti-streptolysin-O-Antikörpern mit dem Streptoenzyme-Test. Da man beim Streptozyme-Test bei positiver Reaktion nicht weiß, welcher oder wieviele Antikörper erhöht sind, ist es auch nicht möglich das Ergebnis in irgendwelchen Einheiten auszudrücken (13). Als klinisch signifikant gilt ein positiver Reaktionsausfall bei einer Serumverdünnung von größer oder gleich 1:100.

Reagenzien:

Streptozyme-Reagenz¹: Standardisierte Suspension von mit Formaldehyd fixierten Schaferythrozyten, die mit Streptokokken Exoenzymen (SLO, SK, Hyaluronidase, DN-ase, NAD-ase) sensibilisiert worden sind. Das Reagenz muß bei +2 bis + 8° C gelagert werden.

Dieses Reagenz wird zusammen mit einem Positiv-und Negativ-Kontrollserum, mit Rührstäbchen und mit Kapillarpipetten von Byk-Mallinckrodt, Frankfurt/Main geliefert.

Heteroagglutinine gegen formalinisierte und tannierte Schaferythrozyten könnten durch separat bei anderen Firmen käufliches Schafblut ausgeschlossen werden.

¹Hersteller: Whampole-Lab.

Durchführung des Streptozyme-Tests

A. Mit Serum

Mit Hilfe einer Kapillare wird ein Tropfen des mit physiol. Kochsalzlösung 1:100 verdünnten Serums auf einen sauberen Objektträger gebracht. Neben diesen Tropfen gibt man einen Tropfen gut aufgeschütteltes Reagenz und vermischt die beiden Tropfen gut mit einem Rührstäbchen, das nur an einem Ende angefaßt werden darf und nach jeder Mischung zu verwerfen ist. Danach bewegt man die Objektträger zwei Minuten kreisend und wiegend und prüft anschließend über einer Rhesusschaukel gegen einen schwarzen Hintergrund ob es zu einer Agglutination gekommen ist. Es ist sinnvoll positive Ergebnisse je nach Stärke der Agglutination mit + bis +++ zu bewerten. Negative Proben zeigen nur eine ganz feine Granulation. Schwach positive Seren sind anfangs schwer von den negativen zu unterscheiden, sie zeigen aber eine deutliche Flockung, wenn man den Objektträger nach dem Bewegen einige Zeit ruhig liegen läßt.

B. Mit Blut

Das mit einer Kapillarpipette aus der Fingerbeere oder dem Ohrläppchen entnommene Blut (0,05ml) wird noch bevor Koagulation eintritt in ein Reagenzglas mit 2,5 ml physiol. Kochsalzlösung gegeben. Nimmt man einen Hämatokrit von 50 % an, so entspricht diese Verdünnung von 1:50 einer Serumverdünnung von 1:100.

Das weitere Vorgehen entspricht dem mit Serum.

Da die mitgelieferten Positiv- und Negativkontrollen nichts über den Sensibilisierungsgrad der jeweiligen Charge aussagen, empfiehlt es sich, als Kontrolle ein Standardserum (mit meist 100-150 ASL-Einheiten/ml) in einer Verdünnung von 1:50 und 1:100 zu testen:

Bei 1:50 sollte eine schwach positive; bei 1:100 eine negative Reaktion erfolgen. Selbstverständlich eignet sich auch das internationale Standardserum für die ASL-O-Reaktion mit 10 I.E./ml, das bei einer Verdünnung von 1:6 gerade noch positiv sein sollte.

3. Die Latex-ASL-Reaktion

Der Latex-Agglutinationstest ist ein Schnelltest, der in vielen Laboratorien zur Abtrennung von Seren mit normalem ASL-Gehalt von solchen mit erhöhtem ASL dient, bevor die "positiven" Seren einer genauen ASL-Bestimmung in der Hämolysereaktion zugeführt werden. Da ein erheblicher Teil der zur Untersuchung eingesandten Seren einen normalen ASL-Titer hat, kann durch einen solchen Screeningtest viel Zeit eingespart werden. Es ist aber auch zu bedenken, daß durch eine solche Vorauslese ein Teil der Seren infolge falsch negativer Ergebnisse im Schnelltest einer genauen Bestimmung durch die Hämolysereaktion entgeht. Während dieser Teil gering ist, muß ein größerer Anteil falsch positiver Ergebnisse in Kauf genommen werden.

Prinzip: Die Latex-ASL-Reaktion beruht auf einer Agglutination von Polystyrol-Latex-Partikeln, die mit SL-O beladen sind, in Gegenwart von ASL.

Vor der Ausführung der Agglutinationsreaktion fügt man den zu untersuchenden Serumproben ein bestimmtes Volumen SL-O-Lösung zu, das 200 I.E. ASL/ml zu binden vermag. Bei Seren, die weniger als 200 I.E. ASL/ml enthalten, wird alles ASL gebunden, so daß keine Agglutination nach Zugabe von Latex-ASL-Reagenz auftritt. Nur bei Seren mit mehr als 200 I.E./ml erfolgt eine sichtbare Agglutination. Unspezifische Hämolyseninhibitoren (z.B. Cholesterin), die bei der Hämolysereaktion einen erhöhten ASL-Titer vortäuschen können, rufen beim Latextest keine Agglutination hervor (13).

Reagenzien:

1. Latex-ASL-Reagenz: Wäßrige Suspension von Polystyrol-Latex-Partikeln, die mit Streptolysin O beladen sind.
2. Streptolysin O: Standardisiert und lyophil getrocknet. Beide Reagenzien sind von den Behringwerken erhältlich.

Durchführung der Latex-ASL-Reaktion

Der Inhalt einer Flasche SLO wird mit der vorgeschriebenen Menge physiol. Kochsalzlösung (Menge auf dem Etikett angegeben) aufgelöst. Diese Lösung ist im Kühlschrank eine Woche haltbar. 0,3 ml davon pipettiert man in ein kleines Reagenzglas und gibt 0,1 ml des zu untersuchenden Serums hinzu. Nach gutem Durchschütteln läßt man diesen Ansatz 15 Minuten bei Raumtemperatur stehen. Danach gibt man einen Tropfen (0,05 ml) dieser Mischung auf einen Objektträger oder eine der mitgelieferten Testplatten. Unmittelbar danach bringt man einen Tropfen gut aufgeschütteltes Latex-ASL-Reagenz mit der Tropfpipette auf das gleiche Feld der Testplatte. Beide Tropfen werden mit einem Rührstäbchen gut vermischt. Anschließend muß die Platte durch rotierende Bewegungen vier bis sechs Minuten lang geschwenkt werden.

Auswertung: Seren mit einem ASL-Gehalt bis zu 200 I.E./ml zeigen keine Agglutination. Bei Seren mit einem ASL-Gehalt von mehr als 200 I.E./ml kommt es dagegen innerhalb von vier bis sechs Minuten zur Agglutination. Tritt die Agglutination sehr schnell ein (etwa nach einer halben bis einer Minute) und ist sie sehr grobkörnig, so empfiehlt sich die Wiederholung des Tests mit verdünntem Serum. Bei positiver Reaktion ergibt dann eine

Serumverdünnung 1:2 mindestens	400 I.E./ml,
" 1:3 "	600 I.E./ml,
" 1:4 "	800 I.E./ml.

Man kann auch das Serum mit jeweils 300, 400, etc. I.E./ml SLO absorbieren und anschließend den Latex-Test durchführen.

Eine Bewertung negativ, +, ++ und +++ ist sinnvoll, um die verschiedene Empfindlichkeit der einzelnen Latex-Testchargen mit den Ergebnissen des SLO-Hämolyse-Tests vergleichen zu können. Prozonenphänomen ist möglich bei sehr hohen Titern nach Absorption mit nur 200 E. SLO.

4. Die Antistreptokinasereaktion

Nach der Entdeckung der Streptokinase (SK) durch TILLET und GARNER vor 40 Jahren, wurden immer wieder Methoden veröffentlicht, mit denen der ASK-Gehalt im Plasma oder Serum mit mehr oder weniger großer Genauigkeit und Reproduzierbarkeit bestimmt werden kann. TILLET und GARNER selbst fanden, daß die fibrinolytische Aktivität der SK im Serum von Patienten, die einen Streptokokkeninfekt durchgemacht hatten, gehemmt wird. Es zeigte sich bald, daß die Zeit in der sich ein Gerinnsel löst, nicht für die Bewertung des ASK-Titers geeignet ist, da sie auch vom unterschiedlichen Plasminogen-, Fibrinogen-, und Plasmininhibitoren-Gehalt des Probanden-Plasmas abhängt. Es wurde deshalb von vielen Autoren versucht eine Indikator-Reaktion zu finden, bei der der Gehalt der o.g. Substanzen konstant ist. Als erster verwandte H.SCHMIDT (48,49) 1936 an Stelle von Plasma inaktiviertes Serum und gab Fibrinogen in Form von ASK-armen Plasma hinzu. Die höchste Serumverdünnung, die die Lyse des Gerinnsels auch nach konstant 45 Minuten noch hemmte, nahm er als Maß für den ASK-Titer. Zehn Jahre später gaben KAPLAN et. al. (22) eine ähnliche Methode an. Sie unterscheidet sich von der erst genannten nur dadurch, daß sie lyophilisierte Plasma I-Fraktion als Plasminogen- und Fibrinogen-Quelle benutzten und daß sie das Ergebnis bereits nach 30 Minuten ablasen. CHRISTENSEN (11) nahm an Stelle von Plasma-Fraktion I 0,25 % Plasma-Fraktion III als Plasminogenquelle und 0,5 % Rinderfibrinogen. 1962 gab W. HARTL (18) eine modifizierte Methode von CHRISTENSEN an, die mit Thrombinum purissimum, Humanplasminogen, Rinderfibrinogen und verdünntem Serum arbeitet. Bei BOSZÖRMENY (6) findet sich die Beschreibung zweier Trockenpräparate die aus SK und Fibrinogen sowie Humanplasminogen und Thrombin bestehen und die Bestimmung der ASK ebenfalls mit verdünntem Serum ermöglichen.

Wenn auch die für die ASK-Bestimmung benötigten Substanzen heute in einem hohen Reinheitsgrad zur Verfügung stehen, ist es dennoch nicht gelungen, eine ähnlich gut reproduzierbare und standardisierte Methode zu entwickeln, wie dies die ASL-Bestimmung ist.

Wir versuchten mit den heute im Handel befindlichen Substanzen eine einfache, billige, gut reproduzierbare und in jedem Labor durchführbare Mikromethode zur Bestimmung des ASK-Titers zu entwickeln, die besonders die Verhältnisse in der Pädiatrie und die neueren Erkenntnisse der Fibrinolyseforschung berücksichtigt.

Hierzu sind einige theoretische Voraussetzungen zu beachten. Die SK nimmt unter den Aktivatoren des fibrinolytischen Systems eine Sonderstellung ein. Es gibt gegen die körpereigenen Aktivatoren (wie Urokinase) einen thermolabilen Inhibitor im Serum, der wie Epsilon-Aminocapronsäure (E.A.C.A.) wirkt (4), aber nicht gegen SK (12). Während die körpereigenen Aktivatoren Esterasen sind und Plasminogen direkt in Plasmin umwandeln, ist die SK kein Enzym: Die SK setzt aus einem Proaktivator (Proaktivator-Plasminogen-System = PP-System) erst einen Aktivator frei, der dann in einer Sekundärreaktion die Bildung von Plasmin aus Plasminogen katalysiert. SK kann tierisches Plasminogen nicht aktivieren. Es erscheint also sinnlos, SK und Rinderfibrinogen (mit Plasminogen als Verunreinigung) als Reagenzien zu verwenden. Aber in Gegenwart von Spuren Humanplasminogen (PP-System) bildet sich aus diesem und SK ein Komplex, der als Aktivator die Umwandlung von menschlichem und tierischem Plasminogen in Plasmin katalysiert. Während Plasmin von den Sofortinhibitoren (α_2 -Makroglobulin, α_2 -Antithrombin III) reversibel und von den Progressivinhibitoren (α_1 -Antitrypsin) irreversibel und verzögert gebunden wird, ist der Aktivator PP-SK-Komplex von α_1 -Antitrypsin nicht hemmbar (51).

Die Menge Humanplasminogen (PP-System) in gelagerten (4°C) und inaktivierten Seren ist auch bei geringen Verdünnungen immer ausreichend. Sie soll zusammen mit SK nur als Aktivator dienen, um, von den Antiplasminen unbeeinflusst, rasch das Plasminogen des Rinderfibrinogenpräparates in Plasmin umzuwandeln. Die Geschwindigkeit ist bei gleichbleibender Menge Rinderplasminogen und Fibrinogen nur von der Aktivatorkonzentration abhängig und von der Antiplasminmenge im Serum. Die von AK ungebundene SK reagiert mit dem PP-System und bildet mit diesem den Aktivator, der den ungebundenen Anteil des PP-Systems und Rinderplasminogen in Plasmin umwandelt. Die Plasminbildung ist zwar bei einem Verhältnis von PP (Plasminogen): SK=10:1 optimal (51), wenn kein weiteres Plasminogen (z.B. mit Rinderfibrinogen) mehr hinzukommt. Das gebildete Humanplasmin ist aber für die Geschwindigkeit der Lyse von geringer Bedeutung, da es während der Antigen-Antikörper-Reaktion (AG-AK-Reaktion) von den Plasmininhibitoren des Serums wahrscheinlich zum größten Teil inaktiviert wird. Die Kapazität der Plasmininhibitoren ist 30 mal größer als die des Plasmins im Blut (51). Der während der AG-AK-Reaktion gebildete Aktivator kann aber in der anschließenden Indikatorreaktion auch das tierische Plasminogen in Plasmin umwandeln, das dann sofort für die Lyse des Koagulums zur Verfügung steht. Bei einem großem Überschuß an ungebundener SK wird zwar weniger Humanplasmin gebildet (s.o.), da aber eine größere Menge Aktivator zur Aktivierung des tierischen Plasminogens zur Verfügung steht, wird die Lyse um so schneller eintreten, je mehr SK ungebunden bleibt.

Prinzip: Zuerst wird SK durch die Serumantikörper neutralisiert, indem man in einer Versuchsreihe steigende Mengen von SK-Einheiten gleichen Serumportionen zugibt und bei 37°C inkubiert. Als Indikator fügt man Rinderfibrinogen und Thrombin hinzu, so daß ein Gerinnsel entsteht, das von nicht neutralisierter SK über Plasminbildung gelöst werden

kann. Die Menge SK (gemessen in I.E./ml), die ein Gerinnsel gerade nicht mehr lösen kann, gibt die Menge ASK an, die das Serum enthält.

Steht sehr wenig Serum zur Verfügung, so ist eine Serumverdünnungsreihe nötig, der man gleiche Mengen von SK zusetzt (2-20 E./ml je nach Vorverdünnung des Serums), besser noch, indem man zu gleichen Mengen Serumvorverdünnungen 1:5 oder 1:10 jeweils steigende Mengen SK (1:5 bzw. 1:10) zugibt.

Bei der von den Behringwerken angegebenen Makromethode wird Citratplasma verwendet, das neben den Antikörpern auch den Indikator Fibrinogen enthält. Diese Methode kann auf Mikromethode umgestellt werden und besticht durch ihre Einfachheit.

Für die Reaktion werden benötigt:

A. An Geräten:

1. Mikropipetten für die KBR¹
2. Tropfer von 0,025 ml¹
3. Enzympipetten 0,5 ml, 1 ml, 2 ml
4. Eppendorfpipetten
5. Reagenzröhrchen
6. Eppendorf Reaktionsgefäße
7. Öse
8. Feuchte Kammer
9. Brutschrank
10. Rüttler (Mischer)
11. Dunkelfeldbeleuchtung (wie zur Ablesung von Immunpräzipitaten)

B. An Reagenzien:

1. Test-Streptokinase: ² gewonnen aus einem Kulturfiltrat β -hämolyisierender Streptokokken der Gruppe C, hochgereinigt und lyophil getrocknet. Der Inhalt eines (evakuierten) Fläschchens (= 5 000 I.E.) wird in 2,5 ml physiol. Kochsalzlösung aufgenommen. 1 ml dieser Stammlösung enthält dann 2 000 I.E. SK. Haltbarkeit der Lösung nach Angaben des Herstellers 2⁴ Std. im Kühlschrank bei + 4° C bis + 6° C
2. Fibrinogen vom Rind: ² ist ein aus frischem Rinderplasma gewonnenes Proteinpräparat. Mindestens 90 % seines Eiweißgehaltes sind gerinnungsfähiges Protein. Es ist frei von gerinnungshemmenden Salzen wie Citrat und Oxalat. Die Herstellung der Fibrinogenlösung erfolgt nach Vorschrift des Herstellers. Es enthält ausreichende Mengen an Plasminogen.

¹Hersteller: Cooke Engineering Company, Alexandria,
Virginia USA

²Hersteller: Behring-Werke Marburg/Lahn

3. Thrombin: Entweder Reinhrombin von den Behringwerken 1 E./ml oder:
Topostasin enthält je Fläschchen je 3 000 NIH-Einheiten aus Rinderplasma gewonnenes Thrombin.
1 Einheit der aufgelösten Substanz reicht aus, um 1 ml einer standardisierten Fibrinogenlösung bei 28° C in 15 Sec. zu Koagulieren. Es ist frei von Plasmin (25).
4. Puffer: Bei Verdünnung des Serums empfiehlt es sich Phosphatpuffer pH 7,4 zu verwenden, auch entsprechende Veronalpuffer sind geeignet (pH 7,4 - 7,8)

Durchführung:

1. Herstellung einer Streptokinase-Verdünnungsreihe ohne Titration durch Vorlegen von 100, 200, 300, etc. I. E. SK und auffüllen auf 1 ml oder mehr mit physiol. Kochsalzlösung in Reagenzgläser.

Röhrchen Nr.	1	2	3	4	
SK-Lösung 1000 I.E./ml	0,1	0,2	0,3	0,4	ml
Physiol. Kochsalzlösung	0,9	0,8	0,7	0,6	ml
Resultierende SK-Konz.	100	200	300	400	I.E./ml

2. Antigen-Antikörper-Bindung

Zuerst wird das Serum in die Mulden einer Reihe der Mikroplatten getropft und dann in jeweils gleichen Volumenteilen die verschiedenen Streptokinase-Konzentrationen. In die letzte Mulde wird an Stelle von SK 0,025ml physiol. Kochsalzlösung gegeben, so daß hier keine Lösung des Gerinnsels erfolgen darf (Serumkontrolle zum Ausschluß einer abnormen fibrinolytischen Aktivität bzw. Hyperfibrinolyse). Bevor man die Platte für 15-30 Min. in eine feuchte Kammer in den Brutschrank (37°) stellt, wird der Ansatz noch gut auf dem Rüttler durchmischt.

3. Gerinnselbildung und Auflösung

Ebenfalls mit einem Tropfer (0,025 ml) werden nach der Inkubation Fibrinogen, das 1:2 oder 1:3 verdünnt wurde (200-300 mg%), und Thrombin (kleine Tropfen von ca. 0,010 ml) hinzugegeben. Damit sich die Gerinnsel besser retrahieren, wird die Platte für etwa 15 Sec. auf dem Rüttler geschüttelt. Die Gerinnsel sind dann im Dunkelfeld gut sichtbar. Die Platte wird wieder in der Feuchten Kammer in den Brutschrank gestellt.

4. Ablesen

Nach ca. 2 Std. wird die erste Mulde jeder Versuchsreihe ermittelt, in der sich das Gerinnsel noch nicht gelöst hat. Die Reaktion ist im allgemeinen nach 2-3 Std. abgelaufen, so daß man dann den endgültigen Wert des ASK-Titers angeben kann. Er ist gleich dem SK-Gehalt in der ersten Mulde einer Versuchsreihe, in der sich das Gerinnsel nicht gelöst hat.

5. Die Anti-NAD-ase-Reaktion

Die Nicodinamid-adenin-dinukleodidase (NAD-ase) wird von β -hämolyisierenden Streptokokken der Gruppe A, vor allem vom Typ 12, der hauptsächlich bei Halsinfektionen vorkommt, gebildet. Man findet vor allem im Serum von Patienten, die nach einer Racheninfektion an einer akuten Nephritis erkrankten, einen erhöhten Anti-NAD-ase-Titer. Bei Patienten mit akutem rheumatischen Fieber ist der Anti-NAD-ase-Titer im allgemeinen niedriger als bei solchen mit akuter Nephritis (3).

Der Wirkungsmechanismus der NAD-ase ist eindeutig geklärt. Die NAD-ase katalysiert nämlich die hydrolytische Spaltung des Nikotinamid-adenin-dinukleotid-moleküls (NAD) an der Nikotinsäureamid-Ribose-Bindung (37).

Damit sind die Voraussetzungen für die exakte Bestimmung der NAD-ase und somit auch der Anti-NAD-ase gegeben, da das Substrat (NAD) und der Wirkungsmechanismus der enzymatischen Reaktion genau bekannt sind.

Prinzip: (37) Zu einer Serumverdünnungsreihe gibt man gleiche Mengen von NAD-ase und inkubiert bei 37°C . Dies ist die AG-AK-Reaktion. Anschließend wird eine konstante Menge NAD hinzugegeben, die von der nicht neutralisierten NAD-ase gespalten werden kann. Da eine NAD-ase-Einheit als die Enzymmenge definiert ist, die in 7,5 Minuten bei 37°C 0,01 mol NAD zu spalten vermag, wird die Reaktion nach Zugabe von NAD genau nach 7,5 Minuten durch Erhitzen gestoppt. Wieviel NAD in jedem Gläschen von der NAD-ase gespalten wurde, kann man berechnen, wenn man photometrisch bestimmt, wieviel NAD noch durch die ADH (Alkoholdehydrogenase) in NADH_2 umgesetzt werden konnte.

Es hat sich nun gezeigt, daß die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse am besten ist, wenn man in dem Bereich mißt in dem 50% der eingesetzten NAD-ase neutralisiert wurden und wenn gerade die Hälfte des hinzugegebenen NAD gespalten wurde. Unter diesen Bedingungen ist nämlich die Enzymaktivität der NAD-ase optimal und deren Hemmung durch Immunantikörper am geringsten. Es gilt also nun die Serumverdünnung photometrisch zu bestimmen, bei der die Hälfte der NAD-ase neutralisiert wurde und die Hälfte des NAD gespalten wurde. Es ist leicht einzusehen, daß die Extinktion, bei der dies der Fall ist, konstant sein muß, da ja immer die gleiche Menge NAD eingesetzt wurde.

In dem von den Behringwerken standardisierten Test sind die Mengen so gewählt, daß bei einer Extinktion von 0,250 (Messung im Photometer bei 366nm) die Hälfte der eingesetzten NAD-ase neutralisiert wurde und 50% des ursprünglich vorhandenen NAD gespalten hat. Somit erhält man den Anti-NAD-ase-Titer, indem man die halbe Konzentration der eingesetzten NAD-ase mit dem reziproken Wert der Serumverdünnung multipliziert, bei der die Extinktion 0,250 erreicht wurde.

Normalwerte:

Bis 200 Anti-NAD-ase-Einheiten werden von den Behringwerken als normal angegeben.

Bei uns waren die Anti-NAD-ase-werte, die mit dem Behring-Test bestimmt wurden, meist wesentlich niedriger als die dazugehörigen ASL-0-werte. Wir ermittelten deshalb selbst einen Normalwert mit dem Test der Behring-Werke, indem wir Seren mit gleichem ASL-Titer poolten und den dazugehörigen Anti-NAD-ase-Titer bestimmten. Wir kamen dabei auf einen oberen Normalwert, entsprechend 200ASE, der zwischen 50 und 75 Anti-NAD-ase-Einheiten/ml lag. Auch der Anti-NAD-ase-Titer von Standard-Human-Seren verschiedener Chargen lag in diesem Bereich, so daß Werte über 100 Anti-NAD-ase-Einheiten/ml als verdächtig anzusehen sind.

Gepoolte Seren				Zugehörige Anti-NAD-ase-Einheiten	
16	Seren mit je	150	ASE/ml	50	
33	" "	200	ASE/ml	50	75
20	" "	300	ASE/ml	75	
24	" "	400	ASE/ml	100	150

Für die Reaktion werden benötigt:

A. An Geräten und Glaswaren

1. Photometer, das eine Extinktionsmessung bei 366 nm erlaubt. Wir verwendeten das Eppendorf-Photometer.
2. Wasserbad 37° C
3. Wasserbad 60-70° C
4. Eppendorfpipetten
5. Enzympipette 5 ml
6. Reagenzröhrchen
7. Eppendorf-Reaktionsgefäße
8. Quarzküvette, 1 cm Schichtdicke.

B. An Reagenzien:

1. ADH-(Alkohol-Dehydrogenase)¹, lyophil getrocknet; die gebrauchsfertige Suspension enthält mindestens 400 E/ml
2. NAD (Nicotinamid-adenin-dinucleotid)¹, lyophil getrocknet; die gebrauchsfertige Lösung enthält 5 mg NAD/ml in Phosphatpuffer
3. Streptokokken-NAD-ase¹, lyophil getrocknet; die gebrauchsfertige Lösung enthält 500 E/ml
4. Pufferlösung I¹: Phosphat-Pufferlösung (1/15mol/l) pH 7,3 Konservierungsmittel: Natriumazid (1mg/ml)
5. Pufferlösung II¹ enthält: Natriumpyrophosphat 0,2ml/l; Äthanol 20 ml/l Semicarbazid-Hydrochlorid 0,5 g/l, pH 9,0 Konservierungsmittel: Natriumazid (1mg/ml)

¹ Hersteller: Behring-Werke Marburg/Lahn

Durchführung:

Mit physiol. Kochsalzlösung stellt man sich eine Serumverdünnungsreihe, etwa nach dem Schema 1:2, 1:3, 1:4, 1:6, usw. her. Die benötigten Reagenzien, ADH, NAD und Streptokokken-NAD-ase werden erst unmittelbar vor der Verwendung in der auf dem Etikett angegebenen Menge aqua dest. aufgelöst. Zu jeder Verdünnungsstufe gibt man dann 1 ml Pufferlösung I und 0,1 ml NAD-ase und stellt diesen Ansatz für 30 Minuten in ein Wasserbad von 37° C. Anschließend pipettiert man in jedes Röhrchen im Abstand von genau 30 Sec. 0,1 ml NAD. Unmittelbar nach der Zugabe des NAD gibt man jedes Röhrchen für genau 7,5 Min. in ein Wasserbad von 37° C und dannach für 3 Min. in ein Wasserbad von 60-70° C. Nachdem in allen Röhrchen die Reaktion durch Erhitzen gestoppt wurde, wird jedes mit je 2,0 ml Pufferlösung II und ca. 0,005 ml ADH versetzt. Mit einem Photometer wird dann, nachdem dieser Ansatz ca. 10 Minuten bei Zimmertemperatur gestanden hat, die Extinktion bei 366 nm gemessen. Dazu wird eine Quarzküvette von 1 cm Schichtdicke benötigt.

Wird bei einer bestimmten Serumverdünnung eine Extinktion von 0,250 erreicht, so erhält man den Anti-NAD-ase-gehalt/ml Serum, wenn man den reziproken Wert der Serumverdünnung mit 25 multipliziert.

6. Antistreptolysinbestimmung mit Mikromethode

Die Methode der Wahl zur Diagnose einer abgelaufenen Streptokokkeninfektion ist auch heute noch die wiederholte Bestimmung des ASL-Titers. Der ASL-Reaktion (ASR) wird gegenüber den meisten anderen Methoden zum Nachweis von Antikörpern gegen Streptokokkenexoenzyme der Vorzug gegeben, da sie keine methodische Schwierigkeiten bietet, wenn frische Erythrozyten zur Verfügung stehen.

Ferner können die Ergebnisse der ASR verschiedener Laboratorien verglichen werden, da ein internationales Standardserum als Bezugssystem vorhanden ist. Ein weiterer Vorteil ist darin zu sehen, daß die meisten hämolyisierenden Streptokokken der Gruppe A, C und G zur Bildung von Streptolysin-O (SLO) fähig sind und es so bei Krankheiten, die durch diese Keime verursacht werden, meistens zu einem Anstieg des ASL-Titers kommt (37). Ein Nachteil der ASR ist, daß durch unspezifische Inhibitoren des SLO, wie sie in ikterischen, lipämischen, hämolytischen und bakteriell verunreinigten Seren vorkommen, ein erhöhter Titer vorgetäuscht werden kann. Zur Entfernung von Inhibitoren der β -Lipoprotein-Fraktion hat sich die von BURSTEIN und SAMILLE (7) angegebene Fällung mit Dextransulfat und Calciumchlorid als nützlich erwiesen. Dextransulfat allein reicht auch aus(47).

Die anderen genannten Inhibitoren können teilweise mit bloßem Auge erkannt werden.

In den großen Laboratorien ist die ASL-Bestimmung nach KALBAK in der Modifikation nach SCHEIFFARTH und LEGLER (45) weitgehend von der von TAKATSY (55) entwickelten Mikromethode verdrängt worden. Der besondere Vorteil der Mikromethode liegt darin, daß durch die Reduzierung des Versuchsansatzes auf einen Bruchteil und die Verwendung von Mikroplatten und genormten Tropfern und Ösen eine er-

hebliche Ersparnis an Reagenzien und Zeit erzielt wird, ohne daß die Präzision leidet.

Prinzip: Zur Serumverdünnung gibt man gleiche Mengen SL-O. Nach dieser Neutralisationsreaktion fügt man als Indikator geeignete Erythrozyten zu, die von nicht neutralisiertem SL-O lysiert werden. Bei einer Ablesung der Mikroplatten ist ein Konkavspiegel hilfreich. Beim Patienten- und beim Standardserum wird die erste Mulde mit vollständiger Hämolyse ermittelt und mit Hilfe einer Umrechnungstabelle der Titer des Patientenserums bestimmt, indem man die Abweichung des Standardserums vom Sollergebnis (in erlaubten Grenzen) beim Patientenserum zu- oder abrechnet.

Für die Mikromethode werden benötigt:

A. An Geräten:

1. Einmalpipetten aus dünnem Kunststoff oder Dauerplatten aus Plexiglas¹. Die Platten enthalten 8 mal 12 Löcher (Durchmesser 6mm, 10mm tief). Für die ASR sollten nur Platten mit halbkugeligem Boden (U-Platten) verwendet werden.
2. Genormte Plastiktropfer¹ (Tropfengröße 0,025 ml)
3. Genormte Ösen¹ (nehmen 0,025 ml Flüssigkeit auf)
4. Auslaßtester für die Ösen aus Löschpapier zur Kontrolle der korrekten Füllung.
5. Mischer oder Rotationsrüttler

B. An Reagenzien:

1. SLO-Reagenz (von verschiedenen Firmen)

Eine Packung (der Behringwerke) enthält SLO-Reagenz mit je 200 Einheiten SLO, lyophil getrocknet, sowie Natriumthioglycolat-Lösung (0,3 mol/l) zur reduzierenden Aktivierung des SLO.

2. Phosphatpufferlösung pH 7,3

Phosphat-Pufferlösung-Konzentrat der Behringwerke wird mit 1:25 dest. Wasser verdünnt. Dies ergibt eine Lösung mit 0,06 mol/l Phosphat und einem pH von 7,3.

3. Standard-ASL-O-Serum (der Behringwerke)

das 10 I.E./ml enthält, bezogen auf den Kopenhagener Standard.

4. Kaninchen-Erythrozyten-Suspension

Das konservierte Kaninchenblut (15 %ige Suspension der Behringwerke) wird in physiol. Kochsalzlösung oder Phosphatpufferlösung pH 7,3 insgesamt dreimal gewaschen (Zentrifugieren für 10 Minuten bei 2000-3000 U/Min.). Zuletzt wird mit Auffüllen mit Phosphat-Pufferlösung eine 2,5 %ige Suspension her-

¹Hersteller: Cooke Engineering Company, Alexandria,
Virginia USA

gestellt, die im Kühlschrank ($4-6^{\circ}\text{C}$) 2-3 Tage haltbar ist.

Auch O-rh.-neg.-Blut und frisches Hammelblut ist geeignet.

Durchführung der ASR

Zunächst stellt man mit dem Phosphatpuffer zwei Ausgangsverdünnungen vom Standard-ASL-Serum her, und zwar 3:10 (= 3 I.E./ml) und 1:5 (= 2 I.E./ml). Das Patientenserum wird 1:25 und 1:37,5 verdünnt. Es empfiehlt sich aber die β -Lipoproteide des Patientensersums vorher mit Dextransulfat und Calciumchlorid zu fällen, um unspezifische SLO-Inhibitoren weitgehend auszuschalten. Hämolyisierende Komponenten des Serums können durch Erwärmen auf 56° C für 30 Min. im Wasserbad inaktiviert werden. Die SLO-Gebrauchslösung erhält man, indem man den Inhalt eines Fläschchens SLO-Reagenz in 5ml Phosphatpuffer auflöst und 1 ml von dieser Lösung mit 10,5 ml Phosphatpuffer und 1 ml Natriumthioglykolat versetzt. Nach 10 Min. ist diese Lösung gebrauchsfertig und soll sofort verwendet werden. Die nicht mit Natriumthioglykolat aktivierte Lösung ist im Kühlschrank eine Woche haltbar.

In jede Mulde der Mikroplatte wird 1 Tropfen (0,025 ml) Phosphatpuffer mit dem Tropfer vorgelegt. Die Öse wird mit der Serumausgangsverdünnung von 1:25 gefüllt, im ersten Loch der Reihe A einige Male gedreht und entsprechend in die Mulden 3,5, usw. übergeführt. Das 1:37,5 verdünnte Patientenserum wird von Loch 2 der Reihe A aus überpipettiert. Mit dem Standard-ASL-Serumverdünnungen wird entsprechend verfahren. Nach Herstellung der Verdünnungsreihen gibt man in jede Mulde einen Tropfen Lysingebrauchslösung, schüttelt die Platte flach und stellt sie, mit einer planen Glasplatte abgedeckt, für 25 Min. in den Brutschrank (37° C). Für die Indikatorreaktion tropft man in jede Mulde 0,025 ml Erythrozytensuspension, schüttelt flach und bebrütet die abgedeckte Platte bei 37° C für 45 Min.. Das Ablesen des Ergebnisses erfolgt anschließend über einem schrägen Konkavspiegel.

Interpretation: Es wird die 1. Mulde (Verdünnung) des Standard- und Patientenserums gewertet, bei der eine vollständige Hämolyse auftritt. Unvollständig gelöste Proben zeigen ein rundes Sediment von Erythrozyten. Man kann Standard und Proben auch bei beginnender Hämolyse ablesen, falls keine Zeit ist, das Sedimentieren der Erythrozyten abzuwarten. Die Grenze zwischen Hämolyse und keiner Hämolyse ist meistens scharf und gut ablesbar. Eine Hämagglutination, die bei geringer Serumverdünnung auftreten kann, ist leicht von einer Hämolyse zu unterscheiden. Die Umrechnung der Titerhöhe auf Einheiten erfolgt mit der Umrechnungstabelle, wie sie auch den Behringreagenzien beiliegt, oder bei anderen Verdünnungsschemata durch eigene Tabellen.

C. Ergebnisse

I. Aus Literaturstudium

1. Entstehung von Streptokokkennachkrankheiten

Voraussetzung für die Entstehung eines rh. F. ist die Infektion mit β -häm.-A-Str.. Im Gegensatz zur GN können alle Typen von häm.-A-Str. ein rh. F. hervorrufen (2b). Zur akuten diffusen GN kommt es vor allem nach einer Infektion mit den nephritogenen Typen 12,49,4,1 der β -häm.-A-Str. (39). Verschiedene Untersuchungen zeigen, daß β -häm.-A-Str. auch heute noch häufig bakteriologisch nachgewiesen werden. Nach WILSON und MILES (62) sind 4-8 % der Gesunden Streptokokkenträger, wobei es sich bei 20 % der gefundenen Keime um β -häm.-A-Str. handelt. Die übrigen Stämme gehören den Gruppen B,C und G an. Im Frühjahr und Winter ist der Prozentsatz der klinisch gesunden Streptokokkenträger höher als im Sommer und Herbst. Auch in der Umgebung von Patienten mit manifesten Streptokokkeninfektionen ist er höher. Einen Rückgang der Streptokokkendurchseuchung konnte JÜNGST (20) nur im 1-5. Lebensjahr feststellen.

MEYER und HAGGERTY untersuchten die Streptokokken-Infektionen bei 16 Familien mit insgesamt 100 Personen ein Jahr lang und kamen dabei zu folgendem Ergebnis: Von 1639 Rachenabstrichen konnten 248 (15 %) mit β -hämolyisierenden Streptokokken gefunden werden, von denen 22,4 % nicht zur Gruppe A gehörten (35).

SASLAW und STREITFELD (44) zeigten, daß 45 % der Schulkinder in Florida wenigstens einmal im Schuljahr β -häm.-A-Str. in ihrem Rachen hatten. Aber nur 4 % hatten einen ASL-O-Titer von mehr als 250 E/ml. Es handelte sich also nur bei diesen 4 % um eine echte Streptokokkeninfektion.

Der Prozentsatz könnte noch etwas höher sein, wenn mehrere AK bestimmt worden wären (s.S. 39).

Zu ähnlichen Ergebnissen kam KAPLAN, der den ASL- und ADNA-ase-Titer bei Kindern mit β -häm.-A-Str. und klinischen Zeichen einer Tonsillitis bestimmte: Über die Hälfte

dieser Kinder hatte keinen Titeranstieg, so daß die Krankheitssymptome nicht durch die gefundenen Streptokokken verursacht sein konnten(21).

Die beiden letzt genannten Studien zeigen also, daß β -hämolysierende Streptokokken zwar häufig gefunden werden, daß es aber nur selten zu einer immunologischen Auseinandersetzung kommt und somit eine Penicillintherapie beim Nachweis β -hämolysierende Streptokokken nur selten angebracht ist.

Auch der Scharlach, nach dem zwar ein rh. F. relativ seltener folgt, dessen Erreger aber auch Streptokokken der Gruppe A sind, gehört immer noch zu den häufigsten meldepflichtigen Infektionskrankheiten.(Hepatitis wird vermutlich auch nicht immer erkannt und gemeldet, ebenso manche Enteritis mit Salmonellen.)Im Bundesgebiet erkrankten 1971 51,7/100 000 Einwohner neu an Scharlach. Insgesamt ist aber ein Rückgang der Scharlacherkrankungen von 95 800 im Jahre 1950 auf 43 724 im Jahre 1972 zu verzeichnen. Die Zahl der Todesfälle hat sogar noch stärker abgenommen, nämlich von 250 auf 4 (63). Bei diesen Zahlen ist aber zu bedenken, daß beim derzeit milden Verlauf des Scharlachs nicht alle Fälle gemeldet und behandelt werden.

Wenn man bedenkt, daß die Häufigkeit des rh.F. nach Streptokokkeninfektionen durchschnittlich bei 1,6 bis 2,5 %, bei Epidemiestreptokokken bei 2,5 bis 3 % und bei Endemiestämmen um 0,3 bis 1 % liegt, so wäre das rh. F. auch heute noch sehr häufig, wenn die Infektionen nicht sehr früh mit Penicillin behandelt würden oder aber andere epidemiologische Faktoren wirken würden (60).

Das rh. F. beginnt meist mit einer Latenz von 2 bis 3 Wochen (im Durchschnitt 19 Tage) nach der Streptokokkeninfektion, in 10 % der Fälle beträgt die Latenz weniger als 10 Tage, in 20 bis 30 % mehr als 4 Wochen (41).

Die akute diffuse GN tritt im allgemeinen 14 bis 25 Tage nach der vorausgegangenen Streptokokkeninfektion auf, mit einem Häufigkeitsgipfel am 20. und 21. Tag (63).

Obwohl die Aetiologie des rh. F. schon lange gesichert ist,

ist die Pathogenese noch weitgehend ungeklärt. Wie bereits oben erwähnt, kommt es nur in einem geringen Prozentsatz nach einer Streptokokkeninfektion zu einem rh. F.. Für die Entstehung eines rh. F. scheint eine bestimmte immunologische Reaktionslage nötig zu sein, die erst die Voraussetzung dafür schafft, daß es zu einer rheumatischen Entzündung kommt (29).

Für die Pathogenese der GN werden zwei verschiedene Mechanismen diskutiert: 1. Zwischen Antigenen der Plasmamembran der Streptokokken und der glomerulären Basalmembran soll eine Antigenverwandschaft bestehen, so daß sich die gegen die Streptokokken gebildeten AK auch gegen die Basalmembran des Glomerulums richten. Dieser Mechanismus entspricht dem experimentell erzeugbaren Masugi-Typ der GN und soll in 50 % bei proliferativer postakuter und chronischer GN vorkommen. 2. Die andere Möglichkeit der Entstehung einer GN ist die, daß sich Immunkomplexe aus zirkulierenden Streptokokkenantigenen und Antikörpern an der Basalmembran des Glomerulums niederschlagen solange Antigen im Überschuß vorhanden ist. Hier kommt es dann auch zu einer Komplementaktivierung, die an einem Abfall des Komplements im Serum des Patienten nachweisbar ist, und damit zum Einsetzen des Entzündungsprozesses (43,65).

2. Häufigkeit von Streptokokkennachkrankheiten

Es ist schwierig Zahlen über die Häufigkeit des rh. F. zu bekommen, da diese Krankheit in den meisten Ländern nicht meldepflichtig ist. Mortalitätsziffern wie sie z.B. auch aus der BRD vorliegen haben meist eine beträchtliche Fehlerquelle. Auch die klinische Alltagsdiagnostik versagt häufig wie eine Zusammenstellung von BÖHMIG und KLEIN (5) eindrucksvoll zeigt: Von fünf akuten Fällen einer autopsisch gesicherten Endokarditis verrucosa rheumatica blieben zwei Fälle klinisch unerkannt, von 47 rezidivierenden Fällen wurden 18 klinisch nicht erkannt und 26 als altes Vitium bezeichnet. Von 9 abgelaufenen Fällen blieben 8 klinisch unerkannt und nur 1 Vitium wurde richtig gedeutet. Nach GROSSE-BROCKHOFF (17) haben 40 % der rheumatisch bedingten Klappenfehler im Kindesalter eine stumme Anamnese.

KÖTTGEN und CALLENSSEE (28) untersuchten das Krankengut an 23 deutschen Kinderkliniken und kamen dabei zu folgendem Ergebnis: 1946 bis 1950 wurden 0,8 % aller Patienten wegen eines rh. F. in die Klinik aufgenommen, 1951 bis 1956 0,6 %. In den letzten 4 Jahren betrug die Zahl der Klinikaufnahmen wegen eines rh. F. an der Kinderklinik Karlsruhe (jährlich über 6 000 Aufnahmen) nur noch 0,2 % (50).

Nach dem Statistischen Jahrbuch der BRD (54) starben 1970 88 Menschen an einem rh. F. (0,1/10 000 Einwohner). Ein allgemeiner Rückgang der Letalität des rh. F. ist in den USA zu verzeichnen: 1905 starben noch 6 von 100 000 Einwohnern an rh. F., 1953 nur noch 0,3 (Committee of the American Rheumatism Association) (28). Genauere Angaben über die Zahl der Neuerkrankungen gibt eine Studie aus England: Alle neuen Fälle von rh. F. bei Kindern bis zu 15 Jahren, die aus verschiedenen Bereichen einer Gesamtbevölkerung von 500 000 Einwohnern stammten, wurden einem Kardiologen zugeführt, und von diesem wurde dann die Diagnose endgültig gestellt.

Danach waren im Zeitraum von 1951 bis 1954 2,7/10 000 Kinder an rh. F. neu erkrankt. (Zitiert nach Second Report of the EXPERT COMMITTEE of Rheumatic Diseases, WHO) (28).

Die verifizierten und dem staatlichen Gesundheitsamt gemeldeten Fälle von rh. F. betrugen in England im Jahre 1964 0,004 % aller Kinder. 2,7 % der Erwachsenen zwischen 30 und 59 Jahren litten 1956 an einer rh. Herzkrankheit (40). Ein Rückgang des rh. F. ist auch aus Statistiken der französischen Armee ersichtlich. Während früher 1,5 bis 1,6 % des Gesamtbestandes an rh. F. erkrankt war, waren es 1960 nur noch 0,5 %. Nach CAMELIN und ROSNIER (2a) ist im Vergleich der Jahre 1946 bis 1950 und der Jahre 1956 bis 1958 ein geringer Rückgang von 0,5 % auf 0,3 % zu verzeichnen.

Milde Verlaufsformen des rh. F. sind heute häufiger als früher. Während in den Jahren 1935 bis 1942 in den USA bei Kindern mit rh. F. noch in ca. 65 % eine Karditis nachgewiesen werden konnte, war dies 1960 nur noch in 40 % möglich (32a). Für einen milderen Verlauf des rh. F. spricht auch die Tatsache, daß es eine große Gruppe von Patienten mit Herzleiden gibt, die klinisch und pathologisch nicht von rh. Herzleiden zu unterscheiden sind, bei denen aber klinisch ein rh. F. nicht nachgewiesen werden konnte (56). Nach einer persönlichen Mitteilung von Prof. Bühlmeier spielen erworbene (rheumat.) Herzfehler bei den kindlichen Patienten des Deutschen Herzzentrums München eine völlig untergeordnete Rolle gegenüber den angeborenen (8).

Auch die Diskrepanz der Angaben über die Häufigkeit des rh. F. zwischen Internisten und Pathologen spricht für einen milderen Verlauf. Nach HEVELKE und PETERS (19) waren nämlich nur 14,2 % der pathologisch-anatomisch diagnostizierten Fälle von aktiver rheumatischer Endokarditis in vivo diagnostiziert worden. Bei BÖHMIG und KLEIN (5) beträgt der Prozentsatz der bereits klinisch diagnostizierten rheumatischen Endokarditiden dagegen 53 %.

Dennoch ist ein Rückgang der entzündlichen Herzklappenfehler, die ja zum größten Teil die Folge eines rh. F. sind, auch in den Obduktionsstatistiken zu finden. Aus einer Auswertung von 26 506 Obduktionsprotokollen des ehemaligen Pathologischen Institutes Berlin-Westend geht hervor, daß der Anteil entzündlicher Herzvitien im Untersuchungsgut im Zeitraum von 1930 bis 1954 von 13 % auf 6-7 % abgesunken ist. In über 50 % waren aber die Veränderungen so diskret, daß sie keine funktionellen Störungen verursacht haben dürften. Während die ulzeropolypösen Formen ("Nachkriegsendokarditis") als Folge der antibiotischen Therapie und der besseren Lebensbedingungen stark zurückgingen, ist eine Zunahme der ausgeheilten und chronisch rezidivierenden Formen zu verzeichnen (2h). Zu ähnlichen Ergebnissen kam ZSCHÖCH (66) bei der Auswertung von 34 016 Sektionsprotokollen: Während in der Zeit von 1935 bis 1939 noch 21 % der Sezierten entzündliche Herzklappenveränderungen aufwiesen, waren es zwischen 1953 und 1962 nur noch 11 %. Lediglich die Zahl aller Endokarditiden mit einem Vitium nahm von 4,19 % auf 4,74 % zu. IMPERIAL und FELARCA (2g) fanden bei 6 000 Autopsien in 4,85 % rheumatisch bedingte Herzerkrankungen. Akute diffuse Glomerulonephritiden werden zwar in der Klinik häufiger gesehen als ein akutes rh. F., da sie aber nur selten im akuten Stadium zum Tod führen und auch nur selten einen chronischen Verlauf nehmen, sieht sie der Pathologe relativ selten. Nach übereinstimmenden Statistiken machen sie nur 1 % des Autopsiematerials aus (43,65). Ebenso wie beim rh. F. gibt es eine Dunkelziffer von subklinischen Fällen, deren Verhältnis zu klinisch manifesten zwischen 2,6 : 1 und 3,5 : 1 schwankt (15). A-Streptokokken sind nur eine von mehreren Ursachen für die Entstehung einer akuten GN.

3. Ursachen für den Rückgang des rheumatischen Fiebers

Auch schon vor der Einführung des Penicillins und der Sulfonamide konnte ein Rückgang des rh. F. festgestellt werden. Viele Autoren erklären dies mit der Verbesserung des Lebensstandardes. PERRY und ROBERTS (56) konnten nämlich nachweisen, daß die Häufigkeit von akutem rh. F. direkt proportional zur Zahl der Personen ist, die in einem Raum wohnen.

Ein weiterer Grund für den Rückgang, vor allem der schweren Formen mit Karditis, ist aber zweifellos in der Penicillintherapie zu sehen. ZSCHÖCH (66) führt die Abnahme der akuten Endokarditiden und der Rezidive im Sektionsgut auf die moderne antibiotische Therapie zurück. Die Zunahme der Vitien deutet darauf hin, daß die Therapie mit Penicillin einen frühzeitigen Tod verhindert, aber nicht den Übergang in ein Narbenstadium mit Vitium.

Penicillin ist auch heute noch gut wirksam gegen hämolysierende Streptokokken. Durch die Penicillintherapie wird die Möglichkeit der Entstehung eines akuten rh. F. signifikant herabgesetzt, wenn es gelingt 9 Tage nach Auftreten der Symptome einer Streptokokkeninfektion die Erreger auszurotten (56). Daraus folgt, daß die Entstehung eines rh. F. vom Persistieren der Streptokokken im Organismus abhängig ist. Die Antikörperbildung hat zu diesem Zeitpunkt bereits begonnen. Wie durch eine ausreichend lange Therapie die Häufigkeit von Streptokokkenfolgekrankheiten vermindert werden kann, zeigt eine Untersuchung von DENNY et. al. (14):798 Patienten, die an einer akuten Tonsillitis erkrankt waren, wurden mit Penicillin behandelt. Bei diesen Patienten wurden vorher in 78,3 % der Fälle β -hämolysierende Streptokokken nachgewiesen. Bei einer Kontrollgruppe von 804 unbehandelten Patienten waren in 81,7 % der Fälle β -hämolysierende Streptokokken vorhanden. Nach der Behandlung mit Penicillin ent-

wickelten zwei von 789 behandelten Patienten rh. F., während in der Kontrollgruppe 17 an rh. F. erkrankten. Bei einer bakteriologischen Kontrolle hatten 13,1 % der behandelten und 52,7 % der unbehandelten Patienten β -hämolysierende Streptokokken. Die Wirksamkeit von Penicillin konnte auch bei Scharlachpatienten demonstriert werden, bei denen 72 Stunden nach Therapiebeginn keine Streptokokken mehr nachweisbar waren (9). Zwei Studien aus Baltimore und Kopenhagen zeigen, daß der Rückgang des rh. F. vor allem auf einem Rückgang der Rezidive beruht, während die Zahl der Ersterkrankungen gleichgeblieben ist (31).

Zur Vermeidung eines rheumatischen Rezidivs ist eine Langzeittherapie mit Penicillin über mindestens drei Jahre, besser fünf Jahre, nötig (52). In Deutschland wird eine Langzeittherapie bei Kindern bis ins Erwachsenenalter empfohlen. Der gegen Streptokokkeninfektionen wirksame Blutspiegel von 0,03 E/ml wird durch orale Gabe von 400 000 E. Penicillin/d oder durch i. m. Injektion von 1,2 Mega E. Benzathin-Penicillin alle vier Wochen erreicht (12).

4. Penicillin zur Prophylaxe von Streptokokkennachkrankheiten

Rh. F. und rheumatische Rezidive können nur durch Verhinderung oder rechtzeitige Behandlung von Streptokokkeninfektionen vermieden werden. Dazu gibt es zwei Möglichkeiten: Dauerbehandlung mit Penicillin oder frühzeitige Diagnose und rechtzeitige Therapie der Streptokokkeninfektion.

Eine Penicillindauertherapie ist nur zur Rezidivprophylaxe zu empfehlen, da Kostengründe, Schmerzhaftigkeit der parentalen Therapie, Gefahr der Allergisierung, Verminderung der natürlichen Resistenz und Selektion von penicillinaseproduzierenden Bakterien gegen eine allgemeine Penicillintherapie sprechen. In allen anderen Fällen sollte nach Möglichkeit zuerst die Diagnose einer Streptokokkeninfektion serologisch gestellt werden, bevor Penicillin zur Prophylaxe oder zur Therapie gegeben wird. Da in 40 % bei rh. F. keine vorausgegangene Streptokokken-Krankheit eruierbar ist (17), muß in der Pädiatrie praktisch bei allen unklaren entzündlichen Erkrankungen mit BKS-beschleunigung ein rh. F. serologisch ausgeschlossen werden.

Häufig wird aber in Fällen mit Verdacht auf rh. F. mangels einfacher serologischer Nachweismethoden von vornherein Penicillin gegeben. Zur Interpretation eines Streptokokken-nachweises im Rachen oder bei längerem Verlauf von Impetigo oder Zustand nach Tonsillitis sollte ebenfalls der AK-Titer gegen Streptokokken bestimmt werden, bevor über eine Penicillintherapie entschieden wird. Voraussetzung für die nutzbringende Anwendung serologischer Verfahren ist das rasche Vorliegen eines Ergebnisses, das bisher durch Versand zu Speziallaboratorien stark verzögert wurde, sowie die Zuverlässigkeit des Testverfahrens (mindestens 3 Reaktionen). Deshalb mußte bisher sowohl die Serologie als auch die antibiotische Therapie angewandt werden, bis nach Titerkontrolle oder Auftreten von rheumatischen Symptomen über die Dauer der Therapie entschieden werden konnte.

5. Bewertung der Serologie in der Diagnose des rheumatischen Fiebers

Selbst wenn das rh. F. heute atypischer und milder verläuft, erhebt sich die Frage, ob eine stärkere Bewertung der Serologie (27,36) in der Diagnostik des rh. F. gerechtfertigt ist, zumal hierzulande der allein angewandte ASL-Titer offenbar überbewertet wird. Sollte man nicht besser die frühere klinische Diagnostik belassen, bis eine erweiterte und zuverlässigere Serologie zur Verfügung steht?

JONES stellte 1944 erstmals klare Kriterien auf, nach denen ein rh. F. diagnostiziert werden sollte. 1955 wurden diese Kriterien von der American Heart Association genauer formuliert. Danach sprechen für die Diagnose "rheumatisches Fieber" zwei Hauptkriterien: z.B. Karditis, Polyarthritits, Chorea minor, Erythema marginatum, subkutane Knötchen, oder ein Hauptkriterium und zwei folgender Nebenkriterien: Fieber, Arthralgie, vorangegangenes rh. F. oder rh. Herzkrankheit, stark beschleunigtes BKS, Leukozytose, CRP +, verlängertes PR-Intervall im EKG. Es muß eine nachweisbare Infektion mit hämolysierenden Streptokokken der Gruppe A vorausgegangen sein, bzw. ein Anstieg von ASL-O bzw. anderer Streptokokken-antikörper zu finden sein (1).

Verschiedene Autoren wenden sich gegen eine allzu strenge Anwendung der JONES-Kriterien. Vor allem bei Erwachsenen kann mit diesen Kriterien ein rh. F. oft nicht diagnostiziert werden, da hier in vielen Fällen die Herzsymptomatik fehlt und nur eine Polyarthritits mit beschleunigter BKS das klinische Bild ausmacht (ABLARD und LARCAN) (2e).

Auch larviert verlaufende Anfangerscheinungen kommen häufig vor wie LORENZ und LORENZ (2e) feststellten. BLACKMAN (2e) weist vor allem darauf hin, daß durch die Einnahme von Salizylat enthaltenden Schmerzmitteln eine so deutliche Besserung eintreten kann, daß die Diagnose nicht mehr möglich ist. Vor allem aber gelingt in vielen Fällen der Nachweis

eines vorangegangenen Streptokokkeninfektes mit den bei uns üblichen Methoden nicht mehr.

SCHULZE-RHONHOF (50) weist aber darauf hin, daß auch eine "Überdiagnose" mit den JONES-Kriterien möglich ist: Eine Infektarthritis, bei der Fieber, Gelenkschmerzen und erhöhte BKS gefunden werden, könnte also durchaus als rh. F. diagnostiziert werden, wenn vielleicht auch noch Streptokokken nachgewiesen werden könnten.

In einem hohen Prozentsatz kann aber ein rh.F. mit Hilfe der JONES-Kriterien gar nicht mehr diagnostiziert werden. Nach FEINSTEIN kommt dies in 12 % der Fälle vor, bei BLACKMAN sind es 25 %, und bei KERR gar 38 % (21). Das wichtigste Argument gegen die JONES-Kriterien ist aber, daß 40 % der rheumatisch bedingten Herzfehler eine stumme Anamnese haben (17). Dies veranlasste verschiedene Autoren zu einer Abwandlung der JONES-Kriterien. So unterteilt KÖLLE (27) z.B. die Nebenkriterien in solche 1. Ordnung (Karditisfrühzeichen, flüchtige Arthralgien, subkutane Knötchen, AST-Anstieg, ANAD-ase-Anstieg, früheres rh. F.) und solche 2. Ordnung (Fieber, erhöhte BKS, Leukozytose, CRP +, pathol. Elektrophorese, Anstieg der Glykoproteine). Die Diagnose rh. F. erfolgt genau wie nach den JONES-Kriterien. Aber die Früh- bzw. Verdachtsdiagnose erfolgt, wenn 2 Nebenkriterien 1. Ordnung und 1 oder mehrere Nebenkriterien 2. Ordnung vorliegen; dies erfordert dann auch eine Therapie von 8 bis 10 Tagen (Penicillin).

Die Serologie wird also bei der Früh- bzw. Verdachtsdiagnose des rh. F. stärker bewertet als die allgemeinen Entzündungszeichen. Da man aber in 20 % ein rh. F. nicht diagnostizieren kann, wenn man nur einen AK bestimmt, sollte man bei Verdacht auf ein rh. F. und normalem ASL-Titer zusätzlich zwei andere AK gegen Streptokokkenexoenzyme bestimmen, bevor man auf eine Penicillintherapie verzichtet.

6. Labormethoden zur Prophylaxe und Diagnose von Streptokokkennachkrankheiten

Zur Prophylaxe von Streptokokkenfolgekrankheiten gehört die rechtzeitige Diagnose von Streptokokkenkrankheiten. Eine sichere Diagnose ist nur möglich, wenn klinische Symptome vorhanden sind, der Streptokokkennachweis gelingt und ein AK-Anstieg nachweisbar ist.

KAPLAN konnte zeigen, daß die klinischen Symptome einer Streptokokkenpharyngitis, wie Exsudat, weiche vergrößerte Lymphknoten und Gefäßinjektionen, nicht nur durch A-Streptokokken verursacht werden, sondern auch durch andere Streptokokkentypen und durch Viren. Bei exsudativer Tonsillitis von Kindern werden nur in 15 % Streptokokken gefunden (21).

Der Nachweis von hämolysierenden Streptokokken aus dem Rachenabstrich ist sehr stark abhängig vom Zeitpunkt der Entnahme während des Krankheitsverlaufes und von der bakteriologischen Untersuchungstechnik. Mit einer Routinemethode (Ausstrich der Abstrichtupfer auf einer Blutplatte) konnten CATANZARO und Mitarb. (9) bei unbehandelten A-Streptokokken-Anginen in der ersten Krankheitswoche bei fast 100 % Streptokokken der Gruppe A nachweisen, in der sechsten Woche nur mehr bei der Hälfte der unbehandelten Patienten. Mit aufwendigeren Methoden konnte dagegen RAMMELKAMP (9) in der siebzehnten Woche noch in 97 % die infizierenden Streptokokken nachweisen. Für das rh. F. gibt RAMMELKAMP an, daß nur in 40 - 50 % aller Fälle der bakteriologische Nachweis von β -hämolysierenden Streptokokken gelingt, allerdings auch nur mit Spezialmethoden, die in der Routinediagnostik nicht üblich sind. Bei VORLAENDER und GRENZMANN betrug die Zahl der positiven Rachenkulturen bei vollausgeprägtem rh. F. nur 20 % (59). Bei der Interpretation eines positiven Rachenabstriches ist aber zu beachten, daß die Unterscheidung eines Streptokokkenträgers von einem kürzlich Erkrankten ohne serologische Ergebnisse nicht möglich ist (s.S. 39/40).

Bei der Bewertung von Antikörpertitern ist zusätzlich zu beachten, daß kein Test auf Antikörper gegen Streptokokkenexoenzyme spezifisch ist für ein rh. F., da die Titer nach allen Infektionen mit Streptokokken der Gruppe A,C oder G erhöht sein können (71). Eine einmalige Bestimmung ist immer schwierig zu interpretieren, da erstens der Normalwert definitionsgemäß die Titerhöhe ist, die von nicht mehr als 20 % einer Kontrollgruppe überschritten wird (11) und zweitens in solchen Situationen nichts über den Titer vor der vermuteten Infektion bekannt ist. Es werden deshalb wiederholte Bestimmungen, etwa im Abstand von 14 Tagen, empfohlen, da nur ein Titeranstieg von zwei oder mehr Verdünnungsstufen als signifikant gilt (71).

Der ASL-O Test gilt auch heute noch als der beste Test zur Bestimmung von Streptokokkenantikörpern, wenngleich auch unter bestimmten Umständen, wie z.B. lipämischen, ikterischen, hämolytischen oder bakteriell kontaminierten Seren, falsch positive Ergebnisse vorkommen (61). Da aber 20 % der Patienten mit akutem rh. F. einen niedrigen oder normalen ASL-O-Titer haben, empfiehlt WANNAMAKER (61) bei Patienten mit Verdacht auf ein akutes rh. F., aber niedrigem ASL-O-Titer, die Bestimmung weiterer Antikörper (Anti-DNA-ase, Anti-NAD-ase, Anti-streptokinase und Antihyaluronidase). Werden nämlich drei verschiedene Tests durchgeführt, so ist in über 95 % mindestens einer der drei Antikörpertiter bei akutem rh. F. erhöht (3).

Der Titeranstieg beginnt beim rh. F. und der GN im allgemeinen ein bis vier Wochen nach der Vorkrankheit (53,23) und erreicht zwei bis vier Wochen nach der klinischen Manifestation des rh. F. seinen Höhepunkt (34). Die hohen Titer können bis zu sechs Monaten nach Beginn der Krankheit beobachtet werden (10). Als frühesten Termin, zu dem die Titer normalisiert sein können, gibt KALBAK (26b) acht bis neun Wochen an. Die Bedeutung der Bestimmung von Antikörpern gegen Streptokokkenexoenzyme liegt nur darin, daß sie länger und mit einem Schnelltest auch leichter nachzuweisen sind als die Erreger selbst. Dies ist vor allem wichtig, da ein Drittel der Fälle von akutem rh. F. (64) und die Hälfte der Rückfälle nach

asymptomischen Streptokokkeninfektionen vorkommen (68). In diesen Fällen wird es nämlich besonders häufig vorkommen, daß ein bakteriologischer Nachweis der Erreger nicht mehr möglich ist und die Diagnose einer vorausgegangenen Streptokokkeninfektion ausschließlich von der serologischen Untersuchung abhängt. Falls bei einem Rachenabstrich β -hämolysierende Streptokokken gefunden werden, so ist eine wiederholte Antikörpertiterbestimmung nötig, um festzustellen, ob es sich um eine stärkere immunologische Auseinandersetzung mit Streptokokken der Gruppe A oder um einen gesunden Keimträger handelt (9). Die Höhe der Antikörper ist auch entscheidend für die Prognose, ob nach einer Streptokokkeninfektion eine Folgekrankheit auftritt oder nicht. Während nämlich bei einem ASL-O-Anstieg von 0-120 E/ml nur 0,8 % an rh. F. erkranken, sind es bei einem Anstieg von über 250 E/ml schon 5,5 %.

Bei Streptokokkeninfektionen nach einem rheumatischen Fieber ist die Gefahr eines Rezidivs 5-10 mal höher als die Ersterkrankungsrate (57).

Die Bestimmung von mehreren Antikörpern ist besonders nützlich bei Patienten mit Chorea minor. ARON und Mitarb. (34) wiesen in einer Studie nach, daß 30 Jahre nach den ersten Erscheinungen einer Chorea minor 34 % der Patienten an einer Herzkrankheit litten, bei 26 % war eine endgültige Klappenerkrankung nachweisbar. Bei Chorea minor empfiehlt sich vor allem die Bestimmung des Anti-DNA-ase-B-Titers, da dieser besonders lange erhöht bleibt und die Latenzzeit bei Chorea minor so lang ist, daß die anderen Antikörper schon Normalwerte erreicht haben können (61).

Anstelle des ASL-Titers sollte bei Verdacht auf eine Hautinfektion mit β -hämolysierenden Streptokokken der Anti-DNA-ase-Titer bestimmt werden, da die AK-Bildung gegen DNA-ase nicht vom Ort der Infektion abhängig ist, wie dies bei der ASL-Bildung der Fall ist (61).

Zur Untermauerung der Diagnose "akute GN" ist der Anti-NAD-ase-Test dem ASL-Hämolysen-Test vorzuziehen, da bei akuter GN der Anti NAD-ase-Titer häufiger erhöht ist als der ASL-Titer (71). Dies ist darauf zurückzuführen, daß die GN häufig

durch A-Streptokokken vom Typ 12 verursacht wird, die gute NAD-ase-bildner sind. Bei Kindern folgt eine GN aber häufig einer Hautinfektion, so daß bei ihnen der Anti-DNA-ase-Test das serologische Verfahren der Wahl ist (15). Eines der Hauptargumente für die Durchführung von Mehrfachtests ist, daß man ein rh. F. fast mit 100 %iger Sicherheit ausschließen kann, wenn keiner von drei oder mehr Antikörpern erhöht oder angestiegen ist. Dem Patienten mit Verdacht auf ein rh. F. kann also in diesem Fall eine jahrelange Penicillinprophylaxe zu Recht erspart bleiben, was früher nicht der Fall war, da ja ein normaler oder sogar niedriger ASL-O-Wert ein rh. F. noch nicht sicher genug ausschließt. Sind also drei oder mehr Antikörper gegen Streptokokkenexoenzyme im Normbereich, so kann ein rh. F. ausgeschlossen werden.

Von praktisch geringer Bedeutung für die Diagnose eines rh. F. oder einer Karditis ist der Nachweis von Herzantikörpern. In zahlreichen Untersuchungen konnte in den letzten 35 Jahren immer wieder festgestellt werden, daß sich im Serum von Patienten mit rh. F. mit Hilfe der indirekten Immunfluoreszenz und der Antiglobulinkonsumptionsteste Antikörper gegen Herzgewebe nachweisen lassen.

Nach SCHEIFFARTH lassen sich die Antikörper gegen Herzmuskelgewebe in zwei Gruppen einteilen: 1. Antikörper gegen M-Substanz der β -hämolyisierenden Streptokokken der Gruppe A, die mit den antigenen Strukturen des Subsarkolemmes des Herzmuskels Bindungen auf Grund einer Kreuzreaktion eingehen und als pathogene Faktoren der rheumatischen Karditis aufgefaßt werden. Diese AK gegen M-Substanz lassen sich im Verlauf einer Carditis rheumatica in 80 % nachweisen. 2. Antikörper, die mit dem Hämagglutinationstest oder der Komplementbindungsreaktion nachgewiesen werden können und nicht mit Streptokokkenantigenen reagieren. Sie werden als unspezifisch angesehen und haben auch keine pathogene Bedeutung. Man findet solche unspezifische Antikörper im Verlauf eines rh. F. in 40-80 %, bei Postcardiomyotomiesyndrom in 97 %, nach Myokardinfarkt in 50 % und häufig auch bei anderen Herzerkrankungen (46).

Nach ZABRISKIE und Mitarb. (32b) sollen sich aber hohe Titer von Herzantikörpern, die von Streptokokkenmembranen absorbiert werden, gut für die Diagnose eines akuten rh. F. eignen. Diese Testverfahren konnten in Deutschland bis jetzt erst recht keinen Eingang in die Routinediagnostik finden. Für die GN-Diagnose kann auch der AK-Titer gegen M-Substanz benutzt werden, der jahrelang erhöht sein kann (39). Auch hier findet sich eine Antigenverwandtschaft zwischen der Basalmembran des Glomerulums und dem M-Protein der A-Streptokokken.

II. Aus eigenen Versuchen

1. Vergleich zwischen Latex-ASL- und Streptozyme-Test

Die Brauchbarkeit des Streptozymetests wurde zuerst durch einen Vergleich mit dem bisher bei uns üblichen Latex-ASL-Test geprüft.

Beim Vergleich zwischen Latex- und SZ-Test fand sich bei 100 normalen Kinderseren eine ziemlich gute Übereinstimmung (s.Abb. 1). Es hatten im Latex-Test 31 Seren einen ASL-Titer von mehr als 200 I.E./ml und im Streptozyme-Test waren 37 bei einer Verdünnung von 1:100 positiv; das entspricht einem ASL-Titer von mehr als 166 I.E./ml. Bei weiterer Verdünnung auf 1:2 bzw. 1:200 unterscheiden sich aber die Ergebnisse stärker (s.Abb. 1). Nur in drei Fällen war der Streptozyme-Test bei positiver Latex-ASL-Reaktion negativ. Dies ergäbe 3% falsch negative Ergebnisse mit dem Streptozyme-Test, wenn man den Latex-Test als absolut richtig ansehen würde. Je nach Chargen muß aber auch mit mehr als 10 % falsch positiver Latex-Tests gerechnet werden.

15 Seren, die im Latex-Test negativ waren, reagierten im Streptozyme bei einer Verdünnung von 1:100 (entsprechend ca. 166 ASE) positiv, acht davon auch noch bei einer Verdünnung von 1:200 (entsprechend ca 332 ASE). Leider konnten von diesen 15 Seren wegen zu geringer Serummengen nur noch sieben auf ihren ANAD-ase- und ASK-Gehalt geprüft werden, von denen aber sechs einen erhöhten ANAD-ase-bzw. ASK-Titer hatten. Dies spricht für die Richtigkeit des Streptozyme-Test in diesen sechs Fällen. Daß der Streptozyme-Test vielleicht in allen 15 Fällen richtig war, wird durch eine Arbeit unterstützt, nach der beim Latex-Test 14 % falsch negative Ergebnisse vorkommen, wenn man ihn mit dem ASL-Hämolyse-Test vergleicht (13).

Bei 100 normalen Erwachsenenseren fällt auf, daß im Latex-Test nur 10 Proben mehr als 200 ASL-Einheiten/ml hatten, aber im Streptozyme-Test bei einer Verdünnung von 1:100 46 positiv reagierten. Bei einer Verdünnung von 1:2 im Latex- und 1:200 im Streptozyme-Test wird der Unterschied noch deutlicher (s.ABB. 2).

Die große Diskrepanz dieser beiden Tests wird vielleicht dadurch verursacht, daß bei Erwachsenen der ASL-Mittelwert niedriger liegt als bei Kindern (26a) und daß bei ihnen auch seltener erhöhte Titer vorkommen. Dieser Unterschied könnte sich bei einem Vergleich der beiden Tests durchaus manifestieren, da der Streptozyme-Test schon bei 166 I.E./ml positiv reagiert, der Latex-Test aber erst bei 200 I.E./ml.

Daß die unterschiedlich festgelegte obere Norm der beiden Tests eine Rolle spielt, zeigt sich auch darin, daß bei stärkerer Verdünnung die Diskrepanz zwischen den beiden Tests sowohl bei den Kinderseren als auch bei den Erwachsenenseren größer wird. In den USA werden 166 ASE als oberer Normwert angesehen.

Alle im Latex-Test positiven Erwachsenenseren waren auch im Streptozyme positiv. Dagegen waren von dem im Streptozyme-Test bei 1:100 positiven Seren 36 im Latex-Test negativ. Fünf davon waren auch bei einer Verdünnung von 1:200 noch im Streptozyme-Test positiv. Von diesen 36 Diskrepanzseren konnten nur noch 32 dem ANAD-ase und ASK-Test zugeführt werden. Davon hatten 16, also 50 %, entweder einen erhöhten ANAD-ase- oder ASK-Wert (s. Abb. 3). Es stellt sich nun die Frage, warum reagierten die anderen 16 Seren im Streptozyme-Test auch positiv? Es ist möglich, daß ein Teil der zusätzlich positiven Ergebnisse auf den bei beiden Tests unterschiedlich festgelegten ASL-Normalwert zurückzuführen ist. Ein anderer Teil ist vielleicht durch einen erhöhten AH- oder ADNA-ase-Titer bedingt, der bei uns nicht bestimmt wurde. Ein geringer Prozentsatz (5 % beim Vergleich mit dem ASL-Hämolyse-Test)(13) beruht vielleicht auf falsch positiven Reaktionen, die durch solche Heteroagglutinine gegen Hammelblut verursacht sein könnten, die trotz Formol-oder Tanninbehandlung der Hammelerythrozyten und hoher Verdünnung noch wirken (wie dies bei Mononucleose möglich ist).

Ganz ähnlich sind die Ergebnisse bei 100 Seren von Patienten mit Verdacht auf einen rheumatischen Prozess, die im Latex-Test ASL-Titer unter 200 I.E./ml hatten. In 18 % war der Streptozyme-Test bei 1:100 positiv, in 6 % auch noch bei 1:200. Zieht man von den 18 % positiven Ergebnissen den

Prozentsatz an falsch positiven ($\approx 3\%$ beim SZ laut Zitat) (13)ab, so kommt man den von anderen Autoren beim Vergleich des Latex- mit dem ASL-Hämolyse-Test gefundenen 14% falsch negativen Ergebnissen im Latex-Test ziemlich nahe (13). Daß aber die zusätzlich positiven Ergebnisse des Streptozyme-Test nicht nur auf einem eventuell erhöhten ASL-Wert beruhen, beweist die Tatsache, daß von 18 Seren 8 einen erhöhten ANAD-ase oder ASK-Titer hatten. Die Frage, warum in den anderen 10 Fällen der Streptozyme-Test positiv war, kann genau so wie bei den Erwachsenenserum beantwortet werden.

Wenn genügend Serum vorhanden war, wurde bei den Diskrepanzseren auch der ASL-Titer bestimmt, falls noch nicht bekannt. Dieser war allerdings in keinem Fall höher als 200 I.E./ml.

Die meisten Autoren berichten, wie eingangs bereits erwähnt, daß bei Bestimmung von drei verschiedenen Antikörpern gegen Streptokokkenexoenzyme die Zahl der erhöhten Titer bei rheumatischem Fieber um 15% größer ist als bei Bestimmung nur eines Antikörpers. Ähnlich sind also die Ergebnisse mit dem Streptozyme-Test bei Verdacht auf einen rheumatischen Prozess.

2. Falsch negative Ergebnisse im Streptozyme-Test

Um den Prozentsatz an falsch negativen Ergebnissen im Streptozyme-Test im Vergleich mit dem ASL-Test zu ermitteln, wurden 42 Seren mit einem ASL-Titer von 200 I.E./ml untersucht. Davon waren 2 ($= 4,8\%$) im Streptozyme-Test negativ, obwohl bei einem auch die ANAD-ase stark erhöht war. Bei dem anderen Serum waren allerdings auch der ANAD-ase- und ASK-Titer stark unter der Norm. Es konnte auch ein im Streptozyme-Test negatives Serum von einem Patienten gefunden werden, der mit Streptokinase behandelt wurde und einen SK-Titer von mehr als 400 I.E./ml hatte. Leider sind aber nicht alle 5 Antikörper bekannt. Aus den Ergebnissen mit den beiden letztgenannten Seren kann man vielleicht schließen, daß es im Streptozyme-Test bei 1:100 nicht zu einer indirekten Hämagglutination kommt, wenn nur ein Antikörper mäßig stark vermehrt ist und die anderen vier weit unter dem Normalwert liegen, eine normalerweise seltene Situation.

Um diesen Verdacht zu erhärten wurde noch mit zwei weiteren Seren Untersuchungen durchgeführt.

Standard-Humanserum für die Richtigkeitskontrolle der Behringwerke reagierte im SZ-Test bei 1:50 + und bei 1:75 (+). Nach Absorption des ASL-O trat eine indirekte Hämagglutination bei einer Verdünnung von 1:20 auf.

Weiter wurde ein Serum mit 600 ASE/ml untersucht. Dieses war im SZ-Test bei 1:100 ++. Nach Absorption des ASL reagierte es bei 1:25 +, bei 1:50 bereits negativ. Aber auch die Absorption der anderen Antikörper wirkt sich auf die Titerhöhe im SZ-Test aus. Bei dem gleichen Serum mit 600ASE/ml wurden zuerst die ANAD-ase-AK und dann auch die ASK-AK q.s. absorbiert, nicht hingegen das ASL-O. Nach Absorption der ANAD-ase reagierte das Serum im SZ noch bei 1:100 mit +. Waren dagegen die ANAD-ase und ASK neutralisiert, so war der Test bei 1:100 bereits negativ. Aus diesen Ergebnissen kann man schließen, daß Seren, bei denen nur ein Antikörper gegen Streptokokkenexoenzyme erhöht ist, während die anderen fehlen oder weit unter dem Normbereich liegen, im SZ-Test negativ sind. Auf dieser Tatsache beruht vielleicht auch ein Teil der falsch negativen Ergebnisse.

Der Wert von 4,8 % falsch negativen Ergebnissen im Streptozyme-Test, verglichen mit dem ASL-Hämolysen-Test, stimmt mit den von anderen Autoren gefundenen Werten überein (13).

Der Prozentsatz an falsch negativen Ergebnissen verringert sich noch, wenn man zur Berechnung auch Seren mit einem Titer von mehr als 200 I.E./ml miteinbezieht. Da aber bei ASL-Werten von mehr als 200 I.E./ml der Streptozyme-Test immer positiv reagierte, wurden diese Seren zur Berechnung nicht hinzugenommen.

Eine weitere Quelle falsch negativer Reaktionsausfälle bei Agglutinationstests ist das Phänomen der Prozone: Bei extremem Antikörperüberschuß bleibt die Reaktion aus, verdünnt man das Serum 5-10fach weiter, so tritt sie dagegen auf. 20 Seren mit einem ASL-Titer von 1 200 bis 2 400 I.E./ml zeigten im Streptozyme eine starke Agglutination auch bei der üblichen Anfangsverdünnung von 1:100. Die Ursache dafür, daß beim Streptozyme-Test dieses Phänomen der Prozone nicht

auftritt, liegt vielleicht darin, daß der Streptozyme-Test bereits mit einer sehr hohen Serumverdünnung begonnen wird.

3. Falsch positive Ergebnisse im Streptozyme- und Latex-ASL-Test

Angaben über falsch positive Ergebnisse im Streptozyme-Test können nicht gemacht werden, da eine exakte Aussage nur möglich wäre, wenn alle fünf monospezifischen Tests durchgeführt würden.

In einem Teil dieser Arbeit wurde auch versucht die Ursache über falsch positive Ergebnisse im Latex-Test zu finden. Dazu wurden 15 Seren, die im Latex-Test mit ++ oder +++ bewertet wurden, aber dann nur einen ASL-Titer von 200 I.E./ml hatten, mit dem Streptozyme-, dem ANAD-ase-, und dem ASK-Test untersucht. Es wäre nämlich möglich, daß das Streptolysin nicht genügend gereinigt ist und so die Latex-Partikel auch gegen andere Exoenzyme sensibilisiert sind.

14 Seren davon waren bei einer Verdünnung von 1:100 im Streptozyme positiv. Auffallend aber ist, daß 10 Seren auch noch bei 1:200 (entsprechend mehr als 333 ASE I.E./ml, wenn nur ASL erhöht wäre) positiv reagierten. Auch der Prozentsatz an erhöhten ANAD-ase- und ASK- Titer war bei diesen Seren höher als bei anderen Seren, nämlich 66 % im Vergleich zu den Erwachsenen-Diskrepanz-Seren mit 41 %. Dennoch kann man nicht mit Sicherheit behaupten, daß diese falsch positiven Ergebnisse durch vermehrte Antikörper gegen NAD-ase oder SK verursacht wurden, da auch ein Serum mit negativem Latex-Test gefunden wurde, das einen hohen ANAD-ase (300 E./ml), einen leicht erhöhten ASK und einen normalen ASL-Titer hatte.

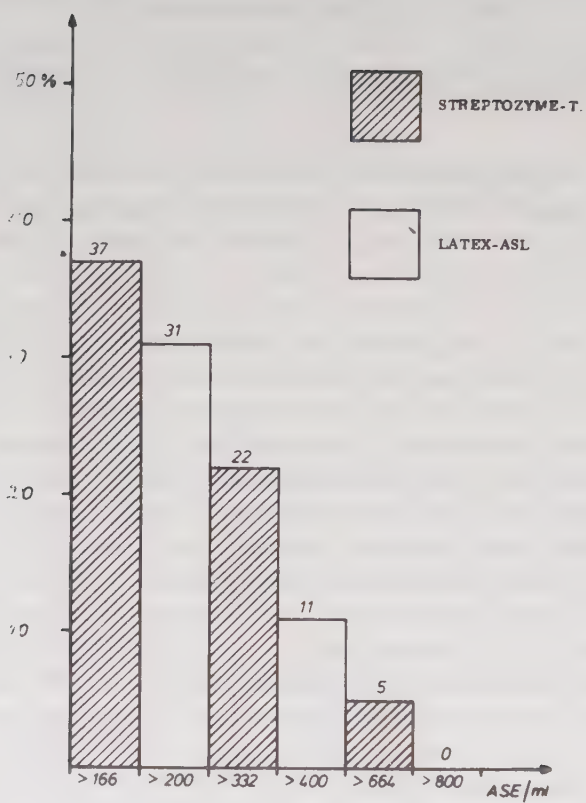


Abb. 1 Latex-ASL- und Streptozymetest bei 100 Kindern ohne Verdacht auf eine rheumatische Erkrankung

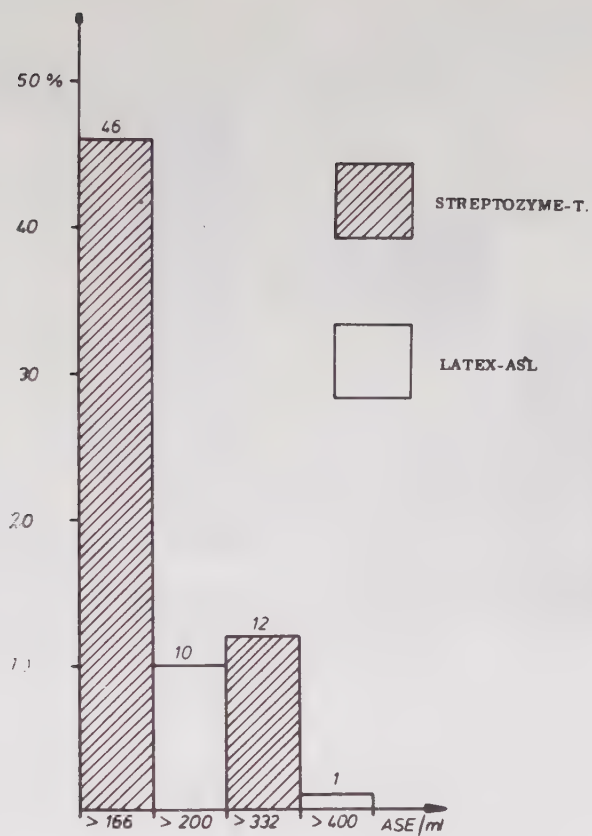


Abb. 2 Latex-ASL- und Streptozymetest bei 100 Erwachsenen ohne Verdacht auf eine rheumatische Erkrankung

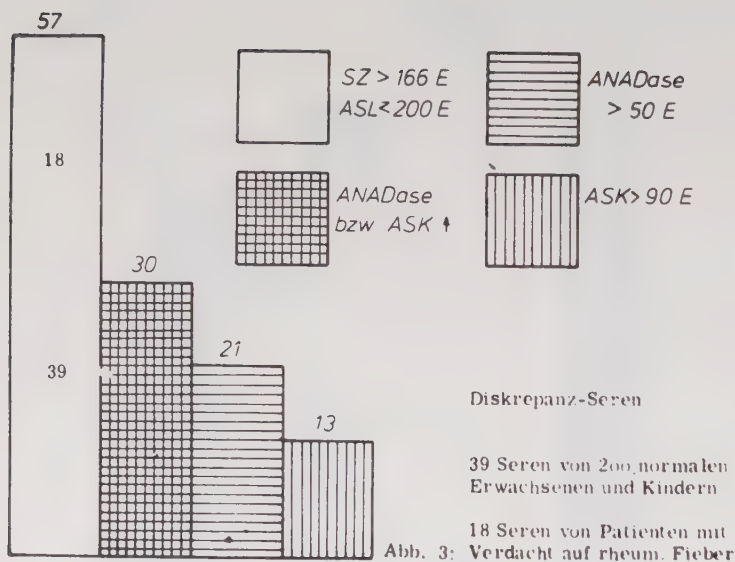


Abb. 3 Von 100 Kinderseren, 100 Erwachsenenseren und 100 Seren von Patienten mit Verdacht auf einen rheumatischen Prozeß waren 69 im Latex-ASL-Test negativ (200ASE), aber im Streptozymetest bei 1:100 positiv.

57 dieser Seren konnten der ANAD-ase- und ASK-Reaktion zugeführt werden (7 Kinderseren, 32 Erwachsenenseren und 18 Seren mit Verdacht auf einen rheumatischen Prozeß).

D.Diskussion

1. Sind die Voraussetzungen für die Entstehung von Streptokokkennachkrankheiten noch gegeben?

Wenn man die Zahl der gesunden Streptokokkenträger von früher und heute vergleicht, so fällt auf, daß auch heute trotz breiter Penicillinanwendung noch häufig Streptokokken im Rachen von Gesunden gefunden werden (62,35). Zu beachten ist allerdings der verschieden große Anteil von Streptokokken der Gruppe A bei den verschiedenen Untersuchungen. Während bei WILSON und MILES 20 % der gefundenen Keime zu Streptokokken der Gruppe A gehörten, waren es bei MEYER und HAGGERTY 77,6 %. Unterschiedliche Angaben über die Häufigkeit von gesunden Streptokokkenträgern können durch die verschiedenen Abstrichtechniken und Untersuchungsmethoden bedingt sein. Dieses Problem wird in einer Arbeit von CHRIST erörtert (9).

Es kommt aber nur in einem geringen Prozentsatz bei den Patienten mit β -hämolisierenden Streptokokken im Rachenabstrich zu einem AK-Anstieg gegen die Exoenzyme der Streptokokken. Ein AK-Anstieg, der gleichbedeutend ist mit einer immunologischen Auseinandersetzung, ist aber die Voraussetzung für die Entstehung von Streptokokkennachkrankheiten. Aber auch in den Fällen, in denen es zu einer immunologischen Auseinandersetzung gekommen ist, kommt es nur in 0,3-3 % zu einem rh. F.. Daraus ist ersichtlich, daß Streptokokkenfolgekrankheiten sehr selten sein müssen, auch wenn die Streptokokken nach wie vor häufig nachgewiesen werden.

2. Ist ein Rückgang der abgeschwächt verlaufenden Streptokokkenfolgekrankheiten festzustellen?

Wenn auch ein Rückgang in der Streptokokkendurchseuchung nicht festgestellt werden konnte (62,22,20,35), so ist doch ein erheblicher Rückgang der Streptokokkenfolgekrankheiten, insbesondere des rh. F. festzustellen. Auffallend ist die fast gleich starke Abnahme des rh. F. sowohl bei der französischen Armee (2a) als auch im Krankengut der deutschen Kinder-

kliniken. Der absolut höhere Prozentsatz von Fällen mit rh. F. in der französischen Armee ist wohl auf die Massenunterbringung der Soldaten und eine Häufung der Erkrankung in diesem Lebensalter zurückzuführen. Da aber die klinische Diagnose des rh. F. schwierig ist, wäre es nicht abwegig, anzunehmen, daß die Abnahme des rh. F. auf einer unzulänglichen Diagnostik beruht, zumal heute bereits viele Fälle mit Penicillin oder Salicylaten behandelt werden, bevor eine sichere Diagnose gestellt wird. Dieser Annahme widerspricht aber die ähnlich starke Abnahme der rh. bedingten Klappenveränderungen, die der Pathologe im Sektionsgut findet. Die Abnahme der entzündlichen Klappenveränderungen kann aber auch dahin gedeutet werden, daß das rh. F. nicht seltener geworden ist, sondern nur milder verläuft. Für diese Deutung würde die Tatsache sprechen, daß die Streptokokkendurchseuchung gleichgeblieben ist. Es ist aber zu bedenken, daß Streptokokkenträger nicht an rh. F. erkranken, so daß aus der Zahl der Streptokokkenträger nicht auf die Häufigkeit von rh. F. geschlossen werden kann. Da es nur nach Streptokokkeninfektionen und -Krankheiten zu einem rh. F. kommen kann, müßte man bei einer Abnahme dieser Krankheiten auch einen Rückgang von rh. F. annehmen. Leider konnte ein statistisch gesicherter Rückgang nur beim Scharlach nachgewiesen werden, da für die anderen Streptokokkenkrankheiten keine Zahlen vorliegen. Zahlen über die Häufigkeit von akuter diffuser GN nach Streptokokkeninfektion sind schwierig zu bekommen, da auch nach anderen Infektionskrankheiten eine akute diffuse GN auftreten kann.

3. Welche Möglichkeiten der Prophylaxe von Streptokokken- nachkrankheiten gibt es?

1. Verbesserung des Lebensstandardes.

Von verschiedenen Autoren wurde darauf hingewiesen, daß durch eine Verbesserung des Lebensstandardes schon vor der Einführung des Penicillins und der Sulfonamide es zu einem Rückgang des rh. F. gekommen ist.

Durch Zunahme der Gastarbeiter in Europa und Deutschland, die

unter Bedingungen leben, die bekanntlich die Entstehung des rh. F. begünstigen, ist mit einer Zunahme dieser Krankheit zu rechnen. Eine Studie von MATHES und SCHATTENKIRCHNER (33) zeigt, daß weitaus die meisten Fälle von typischem rh. F. aus diesem Personenkreis stammen. Diese Autoren fanden unter 2 000 Patienten, die die Rheumatiker-Ambulanz der Medizinischen Poliklinik München aufsuchten 7 Fälle von typischem rh. F.. Fünf dieser Patienten mit typischem rh. F. stammten aus südlichen Ländern und waren erst seit kurzem in München. Als Ursache für den hohen Anteil dieser Personen an typischem rh. F. wird die andere Immunitätslage infolge der geringeren Streptokokkendurchseuchung in südlichen Ländern und die Unterbringung in Sammelunterkünften angenommen. Daß schlechtere Lebensbedingungen nicht nur die Entstehung eines rh. F. begünstigen, sondern auch zu schwereren Verlaufsformen führen, zeigt ein Vergleich der Karditishäufigkeit bei rh. F. zwischen den USA und Ägypten: In den USA wird bei 40 % der Kinder mit rh. F. eine Karditis diagnostiziert, in Ägypten aber bei 80 %. Wahrscheinlich dürfte aber der schwerere Verlauf bei ägyptischen Kindern auf einen späteren Therapiebeginn zurückzuführen sein. Auch bei Gastarbeitern ist zu befürchten, daß sie wegen Sprachschwierigkeiten oder aus Angst, daß sie vielleicht ihren Arbeitsplatz verlieren könnten, erst sehr spät einen Arzt aufsuchen. Zur Prophylaxe des rh. F. gehören also die Verbesserung der Wohnverhältnisse bei den Gastarbeitern und auch bei einem Teil unserer einheimischen Bevölkerung.

2. Penicillintherapie.

Eine Penicillindauertherapie nach einem rh. F. ist wie oben bereits erwähnt zur Rezidivprophylaxe unbeschritten. In allen anderen Fällen sollte Penicillin erst dann gegeben werden, wenn Streptokokken als Erreger der Krankheit nachgewiesen wurden, aber auch dann sollte die Penicillintherapie nur von kurzer Dauer aber ausreichend sein. Bisher sahen sich aber viele Praktiker dazu genötigt, schon vor dem Nachweis der Erreger Penicillin zu geben, da es meist zu lange

dauerte, bis das Ergebnis der serologischen Untersuchung vom Speziallabor vorlag. Ein entscheidender Vorteil des SZ-Tests gegenüber den anderen Verfahren ist, daß kurz nach der Blutentnahme das Ergebnis der AK-Titerbestimmung bereits vorliegen kann und so die Frage über eine Penicillintherapie rasch entschieden werden kann. Wie wichtig eine rechtzeitige antibiotische Therapie ist, zeigt die Tatsache, daß bei einem rh. F. in 90 % die Entstehung einer Carditis verhindert werden kann, wenn bei Therapiebeginn noch keine cardialen Symptome vorhanden waren. Beginnt die Therapie später, so ist sie nur in 30 % erfolgreich(28).

3. Verbesserung der Diagnostik.

Da offenbar in Deutschland dem ASL-Titer bei der Rheumadiagnostik so hohe Bedeutung beigemessen wird, daß selbst bei unvollständiger klinischer Symptomatik, aber erhöhtem ASL-Titer eine Langzeitprophylaxe gegen rh. F. bzw. Carditis eingeleitet wird, sollten Laboratorien konsequent auch für solche Fälle mit normalem oder gering erhöhtem ASL-Titer weitere Tests bereitstellen, damit ein rh. F. mit größerer Sicherheit ausgeschlossen werden könnte. Die hier vorgestellten Reaktionen sind jedem Labor leicht zugänglich und weniger störanfällig als ein Latex-Test und ein Test mit frischen Testerythrozyten. Die Fällung der Lipoproteine zur Vermeidung falsch positiver Ergebnisse beim ASL-Hämolysen-Test ist zudem nicht allgemein üblich, so daß eine gewisse Zahl falsch positiver Ergebnisse anfällt. PETERSEN (37) konnte bei 286 Seren mit einem ASL-Titer von 600 E./ml durch Dextransulfatfällung den Titer in 93 Fällen (= 32,5 %) auf Werte von 200 E./ml reduzieren. Durch die Abnahme von rh. F. und GN mit den typischen klinischen Symptomen, die für die Diagnose entscheidend sind, nimmt die Bereitschaft zu, weniger relevante Kriterien, wie AK-anstieg gegen die Exoenzyme der verursachenden Streptokokken, zu Hauptkriterien zu machen, gilt es doch, das Vollbild des rh. F. durch Chemotherapie erst gar nicht entstehen zu lassen. Dies führte dazu, daß man heute die Früh,- bzw. die Verdachtsdiagnose des rh. F. verbesserte. Die Verdachtsdiagnose rh. F.

wird dann gestellt, wenn zwei Nebenkriterien erster Ordnung und ein Nebenkriterium zweiter Ordnung erfüllt sind. Dies erfordert dann eine Penicillintherapie von 8 bis 10 Tagen mit nachfolgender bakteriologischer und serologischer Verlaufskontrolle.

Diese Frühdiagnostik kann dadurch verbessert werden, daß von den Nebenkriterien nicht nur ein AK gegen Streptokokkenexoenzyme bestimmt wird, sondern mehrere, wodurch die Möglichkeit eines positiven Ergebnisses nach einer Streptokokkeninfektion von 80 auf 95 % erhöht wird. Eine Bestimmung von AK gegen NAD-ase, SK oder DNA-ase an Stelle des ASL-Titers empfiehlt sich bei besonderen Fragestellungen. Besteht der Verdacht eines rh. F. nach einer Hautinfektion mit hämolysierenden Streptokokken, so sollte der DNA-ase-Titer bestimmt werden (61). Bei Verdacht auf akute diffuse GN hingegen ist dem Anti-NAD-ase-Titer der Vorzug zu geben, da die nephritogenen Streptokokkentypen meist sehr gute NAD-ase Bildner sind (61).

Bei Kindern hingegen ist der Anti-DNA-ase-Test das Verfahren der Wahl, da bei ihnen eine GN häufig nach Hautinfektionen vorkommt (23).

Die hier vorgestellte ASK-Reaktion und die komplett käufliche Anti-NAD-ase-Reaktion stehen jedem serologischen Labor zur Verfügung und sollten in ausgewählten Fällen ergänzend oder ersatzweise ins Repertoire einbezogen werden. Dies wäre z.B. möglich bei Verdacht auf ein rh. F. aber normalem ASL, oder in kleineren Laboratorien, die selten ASL-Bestimmungen durchführen und für die sich deshalb die Anschaffung von Testerythrozyten nicht lohnt, oder bei Verdacht auf akute diffuse GN.

Bedeutung gewinnt die Serologie vor allem auch durch die Zunahme der atypischen Verlaufsform, bei denen häufiger ein erhöhter ASL-Titer vorkommt, nämlich in 91 % der Fälle, im Vergleich zu nur 85 % bei typischen rh. F. (43).

Es bleibt unklar, ob die Einbeziehung des ASL-Titers in die Diagnostik diese Steigerung verursacht.

4. Wie ist der neue Streptozyme-Test zu bewerten?

KLEIN und JONES (24) konnten zeigen, daß der STREPTOZYME-Test am besten mit dem ASL-Hämolyse-Test übereinstimmt. Dies kann auch durch die hier vorgelegten Ergebnisse bestätigt werden. Die beiden Autoren fanden auch, daß der Streptozyme-Test mehr positive Ergebnisse bringt als jeder Einzeltest für sich. Sie stellten aber fest, daß mit einer Kombination monospezifischer Einzeltests mehr positive Ergebnisse erzielt werden als mit dem Streptozyme-Test allein. Diese Tatsache wird durch die Ergebnisse unserer Absorptionsversuche geklärt, die zeigten, daß mehrere Antikörper in etwa dem gleichen Ausmaß erhöht sein müssen, was auch meistens der Fall ist, damit der Streptozyme-Test positiv reagiert.

Wir verglichen in erster Linie den Latex-ASL-Test mit dem Streptozyme-Test und versuchten eventuelle Diskrepanzen durch Bestimmung des ASK-, ANAD-ase-, und ASL-Titers zu erklären. In ca. 50 % konnten die zusätzlich positiven Ergebnisse im Streptozyme-Test auf einen erhöhten ASK- oder ANAD-ase-Titer zurückgeführt werden (s. Abb. 3). Es sind allerdings nicht alle Diskrepanzen zwischen dem Latex-ASL- und dem Streptozyme-Test erklärlich. Wie man beim Rheumafaktor, der mit Gamma-Globulin reagiert, das an Latexpartikel oder Erythrozyten gebunden ist, aus den unterschiedlichen Ergebnissen nicht auf eine falsch positive Reaktion für das eine oder andere Testprinzip schließen kann, so ist dies auch beim Latex-ASL- und Streptozyme-Test nicht möglich. Beide Tests besitzen ein hohes Maß an Übereinstimmung und damit an Sicherheit als Suchtest. Wegen des polyvalenten Prinzips, seiner viel einfacheren Handhabung und der Möglichkeit Kapillarblut (z.B. von der Hämatokritbestimmung oder der Mikrosenkung) zu verwenden, ist besonders in der Kinderheilkunde dem Streptozyme-Test der Vorzug zu geben. Steht doch zu fürchten, daß mangels Venenblut ein Suchtest für Rheumatismus oder Glomerulonephritis ganz unterbleibt.

Der neue Schnelltest "Streptozyme" ist sicher und einfach. Er sollte vor allem in der Kinderheilkunde ausgiebig angewandt werden, um auch atypischen Verlaufsförmen vorzubeugen. Da er aus Kapillarblut durchgeführt werden kann, steht dieser Form der Vorsorgemedizin nichts im Wege. Bei der Häufigkeit von Racheninfektionen, die auch durch Streptokokken bedingt sein können, ergeben sich oft Situationen, in denen auf Venenpunktion und Rachenabstrich verzichtet wird. Ein entscheidender Vorteil ist das schnelle Vorliegen des Ergebnisses beim Streptozyme-Test gegenüber dem Versand für ASL-Bestimmung, um die Frage einer Penicillintherapie zu entscheiden. Der Streptozyme-Test kann außerdem jedem serologischen Labor, das nur den ASL-Hämolyse-Test durchführt, in zweifacher Hinsicht empfohlen werden: Der Streptozyme-Test eignet sich erstens ausgezeichnet für ein Screening vor dem ASL-Test, da er mit diesem besonders gut übereinstimmt. Zweitens kann er in Fällen mit niedrigem ASL-Titer, aber Verdacht auf einen rheumatischen Prozeß ergänzend durchgeführt werden, um festzustellen, ob noch andere Antikörper gegen Streptokokkenexoenzyme bestimmt werden sollen.

Ein Nachteil des polyvalenten Testes ist der Nachweis der Summe verschiedener Streptokokken-AK, in der sich bei negativem Testergebnis der signifikante Anstieg eines einzelnen AK verbergen kann.

Deshalb wären drei monovalente indirekte Hämagglutinationsteste vorzuziehen, die aber z. Z. noch nicht erhältlich sind. Die eigene Herstellung mit formalinisierten und tannierten O-rh-negativen Erythrozyten und SL-O bzw. SK ist möglich (38). Die Beladung der Erythrozyten erfolgte nach einer Methode von MAI und ROSIN (30). Für drei Tests fehlen aber zur Zeit reine Exoenzympräparate wie es die SK ist.

5. Welche Schwierigkeiten standen der Neueinführung von Alternativreaktionen zum ASL-Test entgegen?

Als Alternativreaktionen zum ASL-Hämolysen-Test kommen die ANAD-ase-, die ADN-ase-B-, die Antihyaluronidase- und die ASK-Reaktion in Frage. In den USA wird eine Mikromethode der ADN-ase-B-Reaktion beschrieben (36), über die bei uns noch keine Erfahrungen vorliegen, ebenso wenig über die Antihyaluronidase-Reaktion. Beide Enzymreaktionen sollen nur in der Hand erfahrener Untersucher reproduzierbare Ergebnisse liefern (37). Die ANAD-ase-Reaktion wird kritisch als die sicherste in der Durchführung und in ihrer Aussagekraft angesehen (37,61). Sie ist bei uns käuflich, aber offenbar nicht allgemein üblich.

Wir bemühten uns um eine ASK-Reaktion als dritte Reaktion, obwohl auch sie schwer standardisierbar ist, da sie nicht nur in der Rheumaserologie Anwendung findet und die Reagenzien leicht erhältlich sind.

Die Schwierigkeit bei der Entwicklung einer ASK-Bestimmungsmethode lag vor allem darin, daß es auch heute noch kaum möglich ist, die Fibrinolyse beeinflussenden Substanzen aus dem zu untersuchenden Serum zu entfernen, um die Indikatorreaktion davon unabhängig zu machen. Die störenden Serumkomponenten sind vor allem Plasmininhibitoren (α_2 -Makroglobulin, α_2 -Antithrombin III, α_1 -Antitrypsin), Plasminogen bzw. PP-System. Früher glaubte man, daß durch Inaktivierung und Verdünnung der Seren Plasminogen und die Plasmininhibitoren beseitigt (6,18) würden. Dies hat sich inzwischen bei den möglichen Verdünnungen als falsch erwiesen (16). Eine Inaktivierung der Plasmininhibitoren ist für das Zustandekommen der Fibrinolyse auch nicht unbedingt erforderlich, da die Bindung von Plasmin an die Sofortinhibitoren reversibel ist und das Gleichgewicht durch Zugabe von Thrombin auf die Seite des Plasmins hin verschoben wird (51). Außerdem spielt bei der hier vorgestellten Methode das Humanplasmin eine geringere Rolle, entscheidend ist die gebildete Aktivatormenge. Der Aktivator selbst bleibt aber von den Progressivinhibitoren angeblich unbeeinflusst (51), im Gegensatz zu den körpereigenen Aktivatoren (4). Allerdings

konnte der Einfluß der Sofortinhibitoren auf das tierische Plasmin auch bei dieser Methode nicht verhindert werden; die verzögert einsetzende Wirkung der Progressivinhibitoren kann man aber wohl vernachlässigen. Für die Ausschaltung des Plasminogens sind prinzipiell mehrere Methoden möglich. Die einfachste wäre, das Serum für 30 Minuten auf 80° C zu erhitzen, wie sie von LASSEN (29) beschrieben wurde. Dabei werden aber auch die nachzuweisenden Antikörper zerstört, so daß diese Methode nicht in Frage kommt. Ein weiteres einfaches verfahren wäre, das Serum stark zu verdünnen (6,18,11), um Plasminogen und Inhibitoren auszuschalten. Neuere Untersuchungen (16) haben aber gezeigt, daß erst bei Verdünnungen über 1: 3 000 die Plasminaktivität des zu untersuchenden Serums nicht mehr von den Inhibitoren beeinflusst wird. Die Proaktivatoraktivität ist bis 1:10 000 nachweisbar. Bei diesen hohen Verdünnungen ist aber ein Antikörpernachweis meistens nicht mehr möglich. Bei niedrigeren Serumvorverdünnungen, wie z.B. 1:40 (6,18), wird die Wirkung des Proaktivators durch SK auf Rinderplasminogen deutlich herabgesetzt, weshalb ein gereinigtes Plasminogenpräparat zugesetzt werden mußte. Andere Methoden wie sie noch beschrieben wurden, sind zu aufwendig und für eine serologische Routinemethode ungeeignet. Ganz korrekt wäre die Darstellung der Immunglobuline aus dem Serum mit anschließender AG-AK-Reaktion und dann Zugabe von Humanplasminogen, Rinderfibrinogen und Thrombin. Bei der hier vorgestellten Mikromethode konnte also auch der störende Einfluß der Plasmininhibitoren nicht ganz ausgeschaltet werden. Da auch das Humanplasminogen bzw. das PP-System nicht auf einfache Weise aus dem Serum entfernt werden kann, benutzten wir ausschließlich das im Serum enthaltene Plasminogen für die Aktivatorbildung, da es sich zeigte, daß die gebildete Aktivatormenge eine ausreichend schnelle Lysis bewirkt. Es ist also nicht nötig ein teures Plasminogenpräparat für die ASK-Bestimmung zu verwenden. Diese Methode hat den weiteren Vorteil, daß infolge der Mikrotechnik auch bei geringen Serummengen keine Titrationsen nötig sind, wodurch mehr Genauigkeit und Zeitersparnis erzielt wird. Durch die Verwendung einer konstanten Serummenge

ist auch der störende Einfluß des Probandenplasminogens und der Inhibitoren bei jeder Einzelbestimmung gleich. Die einmal vorbereitete SK-Verdünnungsreihe (aus einem Fläschchen) reicht für über 100 Bestimmungen und ist im Kühlschrank 24 Stunden haltbar.

Nicht einheitlich ist die Festlegung des Zeitpunktes und des Grades der Fibrinolyse. Manche streuen Meersand auf das Gerinnsel und stellen eine Lyse dann fest, wenn dieser zu Boden gefallen ist. Andere (16) schütteln Luftbläschen während der Gerinnung in das Fibrin, deren vollständiges Aufsteigen die komplette Lysis anzeigt. Andere sprechen dann von einer Lyse, wenn das Koagulum beim Neigen des Röhrchens leicht herausgleitet (26a). Die meisten warten aber die vollständige Lysis gar nicht ab, sondern stellen die Verdünnung fest, bei der nach einer bestimmten Zeit (meistens 30 Minuten) eine beginnende Lysis festzustellen ist. Da aber der Begriff "beginnende Lysis" schwer zu objektivieren ist, warteten wir so lange, bis keine weiteren Koagel mehr gelöst wurden. Dies war meistens nach einer Stunde der Fall, in manchen Fällen aber erst nach 3 Stunden, vorwiegend in den Mulden mit wenigen Einheiten übriger SK, also im Bereich der Grenzkonzentration. Bei Methoden mit geringer Serum- oder Plasminverdünnung muß die verzögerte Lysis durch Plasmininhibitoren abgewartet werden. Die hier vorgestellte Mikromethode empfiehlt sich vor allem als zusätzliche Reaktion bei Patienten mit Verdacht auf ein rheumatisches Fieber, aber normalem ASL-Titer. Dem ASL-Test vorzuziehen ist die ASK-Bestimmung bei Verdacht auf Hautinfektionen mit β -hämolisierenden Streptokokken, da diese meist einen höheren ASK- als ASL-Anstieg aufweisen. Vor der Einleitung einer SK-Therapie zur Thrombolyse wird auch heute noch der ASK-Titer bestimmt. Falls dazu die Mikromethode verwendet wird, kann der ASK-Titer auch schon nach 30 Min. abgelesen werden, da für diese Fälle meist nur ein orientierender Wert zur Berechnung der einzusetzenden SK-Menge nötig ist.

Bei der Citratplasmamethode ist die Lysezeit von vielen Faktoren abhängig, da sämtliche Aktivatoren und Inhibitoren des Blutes sehr variabel im Ansatz enthalten sind, weshalb die übliche Ablesung nach 10 Minuten eigentlich diese Fehler vergrößert.

E. Zusammenfassung

In einer Literaturübersicht wird die epidemiologische Situation der Streptokokkeninfektionen und der Streptokokkenfolgekrankheiten dargestellt. Es wird gezeigt, daß die Abnahme und der mildere Verlauf des rh. F. , bedingt durch Penicillintherapie und besseren Lebensstandard, eine einfachere Serologie verlangt. Die in den USA seit langem und bei uns heute geforderte Erweiterung der Serologie auf drei Neutralisationsteste erscheint besonders in der pädiatrischen Praxis unrealistisch. Deshalb wurde alternativ ein polyvalenter Schnelltest (Streptozyme) mit vier anderen Tests verglichen (ASL, ASK, ANAD-ase, Latex-ASL). Er erweist sich als nahezu ebenso sicher wie drei monovalente Tests zusammen. Auf Grund der einfachen und schnellen Durchführbarkeit mit Kapillarblut stellt er zur Zeit die optimale Methode in der Pädiatrie dar, ausreichend oft die immunologische Reaktion gegen Streptokokken und damit das Risiko eines rh. F. und einer GN zu kontrollieren. Dadurch lassen sich Rachenabstriche und Penicillinbehandlung einsparen. Die bei uns erhältlichen Neutralisationsteste, ASL-, ASK-, und ANAD-ase-Test, sollten für besondere Fragestellungen von jedem Fachlabor durchgeführt werden können.

F. LITERATURVERZEICHNIS

1. AMERICAN HEART ASSOCIATION
Committee reports: Prevention of rheumatic fever and bacterial endocarditis
Circulation 31 (1965) 948-954
- 2a. ANSCHÜTZ, F.
Endokarditis.
Thieme, Stuttgart 1968, S. 2
- 2b. ANSCHÜTZ, F.
l.c. 2a, S. 3
- 2c. ANSCHÜTZ, F.
l.c. 2a, S. 8
- 2d. ANSCHÜTZ, F.
l.c. 2a, S. 10
- 2e. ANSCHÜTZ, F.
l.c. 2a, S. 30-31
- 2f. ANSCHÜTZ, F.
l.c. 2a, S. 139
- 2g. ANSCHÜTZ, F.
l.c. 2a, S. 218
- 2h. ANSCHÜTZ, F.
l.c. 2a, S. 231-233
- 2i. ANSCHÜTZ, F.
Über den Nachweis der Karditis beim akuten rheumatischen Fieber und bei Rezidiven.
Wiss. Z. d. Friedrich-Schiller-Univ. Jena 16 (1967) 29-36
3. AYOUB, E.M.; L.W. WANNAMAKER
Evaluation of the streptococcal DNA-ase B and DPN-ase antibody tests in acute rheumatic fever and acute glomerulonephritis.
Pediatrics 29 (1962) 527-538
4. BENNET, N.B.
A method for the quantitative assay of inhibitor of plasminogen activation in human serum.
Thrombosis et Diath. Haemorrh. 17 (1967) 12-22
5. BÖHMIG, R.; P. KLEIN
Pathologie und Bakteriologie der Endokarditis.
Springer, Berlin 1953, S. 149
6. BÖSZÖRMENYI, J.
Simplified method for the routine determination of antistreptokinase titre.
Z. Immun. Forsch. 124 (1962) 411-418
7. BURNSTEIN, M.; J. SAMAILLE
Sur une nouvelle methode de dosage des bêta-lipoprotéines du sérum.
Path. et Biol. 6 (1958) 541-545
8. BÜHLMEIER, K.
Persönliche Mitteilung

9. CHRIST, P. Über die Bedeutung von Streptokokkeninfektionen in der Pathogenese der akuten Polyarthritidis und der akuten Nephritis.
Ergebn. inn. Med. Kinderheilk. N.F. 11 (1959) 379-465
10. CHRIST, P. Serologische Untersuchungen bei Streptokokkeninfektionen.
Arb. Paul-Ehrlich-Inst. 51 (1954) 124-166
11. CHRISTENSEN, L.R. Methods for measuring the activity of components of the streptococcal fibrinolytic system, and streptococcal deoxyribonuclease.
J. Clin. Invest. 28 (1949) 163-172
12. COLLI, A.;
H.W. RAUTENBURG;
L. SÄNGER;
H. SPIESS Untersuchungen über die Langzeitbehandlung (Rezidivprophylaxe) des rheumatischen Fiebers im Kindesalter.
Dtsch. med. Wschr. 89 (1964) 2137-2140
13. COLLINS, O.D. Antistreptolysin-O determination by sheep cell agglutination.
Am. J. Clin. Path. 57 (1972) 598-602
14. DENNY, F.W. Prevention of rheumatic fever.
JAMA 143 (1950) 151-153
15. DILLON, H.C. Streptococcal infections of the skin and their complications: Impetigo and nephritis.
in: Wannamaker, L.W.; J.M. Matsen Streptococci and streptococcal Diseases.
N.Y., London: Academic Press 1972, p. 570-587
16. GRAEFF, H.;
K.F. BELLER Plasminogen assays using fibrin as a substrate.
in: Thrombosis and Bleeding Disorders. Thieme, Stuttgart 1970, S. 360-365
17. GROSSE-BROCKHOFF, F. Die Häufigkeit von Herzerkrankungen im Verlauf des rheumatischen Fiebers und die medikamentöse Behandlung der Carditis rheumatica und verwandter Krankheiten.
Dtsch. med. Wschr. 79 (1954) 15-22
18. HARTL, W. Die Antistreptokinaserreaktion im Rahmen der Serodiagnostik rheumatischer Erkrankungen.
Z. f. Rheumaforsch. 21 (1962) 152-161

19. HEVELKE, G.;
B. PETERS
Zur Verteilung pathologischer Herzklappenveränderungen im Hinblick auf Alter, Geschlecht und Rückwirkung auf die Herzklappen.
Intern. Praxis 1 (1961) 167-174
20. JÜNGST, B.;
M. SETAJESCH
Zur Frage der Streptokokkendurchseuchung bei der kindlichen Bevölkerung.
Wiss. Z. d. Friedrich-Schiller-Univ. Jena 16 (1967) 49-52
21. KAPLAN, E.L.
Unresolved problems in diagnosis epidemiology of streptococcal infection.
in: Wannamaker, L.W.; J.M. Matsen Streptococci and streptococcal Diseases.
New York, London: Academic Press 1972, p. 557-570
22. KAPLAN, M.H.
Studies of the streptococcal fibrinolysis. III. A quantitative method for the estimation of serum antifibrinolysin.
J. Clin. Invest. 25 (1946) 347-351
23. KIRSCHNER, L.
Interpretation of antibodies to haemolytic streptococci (Antistreptolysintitres).
N. Zealand Med. J. 55 (1956) 371
24. KLEIN, G.C.;
W.L. JONES
Comparison of the Streptozyme test with the antistreptolysin O, antidesoxyribonuclease B, and antihyaluronidase tests.
Appl. Microbiol. (1971) 257-259
25. KONTINEN, Y.P.
Activation of the fibrinolytic system in human blood by streptokinase and changes in the euglobulin clot lysis time in relation to age and sex.
Scand. J. Clin. Lab. Invest. 17 (1965) Suppl. 82, 43-52
- 26a. KÖHLER, W.
Die Serologie des Rheumatismus und der Streptokokkeninfektionen. 3. Aufl.
J.A. Barth, Leipzig 1963, S. 81
- 26b. KÖHLER, W.
l.c. 26a, S. 130
27. KÖLLE, G.
Diagnostische Schwierigkeiten des rheumatischen Fiebers im Kindesalter unter spezieller Berücksichtigung der Differentialdiagnose zum M. Still.
Wiss. Z. d. Friedrich-Schiller-Univ. Jena 16 (1967) 41-43

28. KÖTTGEN, U.;
W. CALLENSSEE Rheumatisches Fieber im Kindesalter.
Arch. Kinderheilk. Beih. 45 (1961)
1-6
29. LASSEN, M. Heat denaturation of plasminogen
in the fibrin plate method.
Acta physiol. scand. 27 (1953)
371-376
30. MAI, K.;
H. ROSIN Indirekter Hämagglutinationstest
nach Formalinfixation und Beladung
der Erythrocyten mit Tetánustoxoid:
Methode, Standardisierung und Anwend-
barkeit. \n
Z. f. Imm.forsch. 138 (1969) 178-190
31. MARKOWITZ, M.;
L. GORDIS Rheumatic Fever. 2nd ed.
W.B. Saunders, Philadelphia, London,
Toronto 1972, p. 5-6
- 32a. MARKOWITZ, M.;
L. GORDIS l.c. 31, p. 62
- 32b. MARKOWITZ, M.;
L. GORDIS l.c. 31, p. 87-88
33. MATHES, H.;
M. SCHATTENKIRCHNER Verlaufsformen des rheumatischen
Fiebers im Erwachsenenalter.
Wiss. Z.d. Friedrich-Schiller-Univ.
Jena 16 (1967) 37-39
34. MC CARTY, M. The immune response in rheumatic
fever.
in: Thomas, L.
Rheumatic fever, a symposium.
Mineapolis: Univ. Mineapolis
Press, 1962
35. MEYER, R.J.;
R.J. HAGGERTY Streptococcal infections in families.
Factors altering individual
susceptibility.
Ped. 29 (1962) 539-548
36. NELSON, J.;
E.M. AYOUB;
L.W. WANNAMAKER Streptococcal anti-desoxyribo-
nuclease B: Microtechnique de-
termination.
J. Lab. Clin. Med. 71(1968) 867-873
37. PETERSEN, K.F. Fortschritte auf dem Gebiet der
Serodiagnose der Streptokokken-
infektionen.
Ärztl. Lab. 12 (1966) 189-200
38. PILARS DE PILAR, C.E. Persönliche Mitteilung über noch
nicht veröffentlichte Versuche.
(Mschr. f. Kinderheilk.)

39. PFEIFFER, E.F.;
K. FEDERLIN;
F. WAHLIG
Die Immunologie der Nephropathien
und Nierentransplantation.
in: Schwieglk, H.
Handbuch der inneren Medizin
VIII/1-3
Springer, Berlin 1968, S.1035-1188
40. RADI, I.
Das rheumatische Fieber
in: Rheumatologie in der täglichen
Praxis. Aesopus, Lugano u. Mün-
chen, 1972, S. 17-24
41. RAMMELKAMP, C.H. jr.;
B.L. STOLZER
The latent period before the onset
of rheumatic fever.
Yale J. Biol. Med. 34 (1961) 386
42. RAMMELKAMP, C.H.;
R.S. WEAVER
Acute glomerulonephritis. The signi-
ficance of the variations in the
incidence of the disease.
J. Clin. Invest. 32 (1953) 345-358
43. SARRE, H.
Nierenkrankheiten
Thieme, Stuttgart 1967
44. SASLAW, M.S.;
M.M. STREITFELD
Group A beta haemolytic streptococci
and rheumatic fever in Miami Florida.
I. Bacteriologic observations from
October 1954 through May 1955
Dis. chest 35 (1959) 175-193
45. SCHEIFFARTH, F.;
F. LEGLER
Serologische und klinische Er-
fahrungen mit der Antistrepto-
lysinreaktion bei akutem und
chronischem Gelenkrheumatismus.
Ärztl. Wschr. 6 (1951) 660-666
46. SCHEIFFARTH, F.
Immunpathogenese von Myokardio-
pathien.
Klinikerarzt 1 (1972) 94-97
47. SCHIERZ, G.;
C. SANDER
Untersuchungen zur Spezifität der
Antistreptolysinreaktion.
Z. Immun. Forsch. 129 (1965) 427-435
48. SCHMIDT, H.
Beiträge zur Kenntnis der hämo-
lytischen Streptokokken und der
Eigenschaften des Antistrepto-
kokkenserums. I. Die Fibrinolyse
der Streptokokken.
Z. Immun. Forsch. 87 (1936) 1-8
49. SCHMIDT, H.
l.c. 48, II. Die Hemmung der
Fibrinolyse durch Antistreptokokken-
serum.
Z. Immun. Forsch. 87 (1936) 9-16

50. SCHULTZE-RHONHOF, J. Diagnostik, Therapie und Prophylaxe des rheumatischen Fiebers im Kindesalter.
Therapiewoche 21 (1971) 1699-1706
51. SCHWICH, H.G.;
HEIMBURGER, N. Biochemie der Fibrinolyse.
in: Hiemeyer, V.
Therapeutische und experimentelle Fibrinolyse.
Stuttgart, New York: Schattauer
1969, S. 10-24
52. SPIESS, H. Chemoprophylaxe gegen verschiedene Infektionskrankheiten.
Dtsch. med. Wschr. 89 (1964) 2182-2183
53. STADSBAEDER, S. Valeur diagnostique de la recherche des antistreptolysines dans le rhumatisme articulaire aigu.
Acta clin. Belg. 12 (1957) 363
54. STATISTISCHES BUNDESAMT WIESBADEN Statistisches Jahrbuch der Bundesrepublik Deutschland 1972.
Kohlhammer, Stuttgart, Mainz 1973
55. TAKATSY, G.Y.;
J. FÜRESZ;
E. FARKAS Studies on the quantitative relationships of influenza virus-antibody union by means of simple antibody adsorption test.
Acta physiol. Acad. Sci. hung.
5 (1954) 241-254
56. TARANTA, A. Rheumatic Fever: Pathology, etiology, epidemiology and pathogenesis.
in: Hollander, J.L.; Arthritis and allied conditions. 8th ed. Lea
Felbiger, Philadelphia 1972,
p. 736-763
57. TARANTA, A.;
A.R. FEINSTEIN;
E. KLEINBERG; et al. Rheumatic fever in children and adolescents. A long term epidemiologic study of subsequent prophylaxis, streptococcal infections, and clinical sequelae of rheumatic fever in children and adolescents. V. Relation of the rheumatic fever recurrence rate per streptococcal infection to pre-existing clinical features of the patients.
Ann. int. Med. 60 (1964)
Suppl. 5, 58-67

58. TARANTA, A.;
A.R. FEINSTEIN;
H.F. WOOD;
R. SIMPSON;
E. KLEINBERG
Rheumatic fever in children.
A long term epidemiologic study
subsequent prophylaxis, strepto-
coccal infections, and clinical
sequellae of rheumatic fever in
children and adolescents.
IV. Relationship of the rheumatic
fever recurrence rate per strepto-
coccal infection to pre-existing
clinical features of the patients.
Ann. int. Med. 60 (1964)
Suppl. 5, 47-57
59. VORLAENDER, K.G.;
M. GRENZMANN
Klinische Immunologie der Karditis.
in: Anschütz, F.
Endokarditis
Thieme, Stuttgart 1968, S. 138-171
60. WALTER, A.M.;
L. HEIMEYER
Antibiotikafibel. 3. Aufl.
Thieme, Stuttgart 1969, S. 856
61. WANNAMAKER, L.W.
Serum antibodies to streptococci
in rheumatic fever, glomerulo-
nephritis and chorea.
Zbl. Bakt. I. Abt. Orig.
214 (1970) 331-338
62. WILSON, G.S.;
A.A. MILES
Topley and Wilson's Principles of
Bacteriology and Immunity. 4th. ed.
Edward Arnold, London 1955
63. WINDORFER, A.
Infektionsbedingte Krankheiten in
der Bundesrepublik Deutschland.
Dtsch. Ärztebl. 52 (1974) 3745-3753
64. ZAGALA, J.G.;
A.R. FEINSTEIN
The preceeding illness of acute
rheumatic fever.
JAMA 179 (1962) 863-866
65. ZOLLINGER, H.U.
Pathologische Anatomie der intern-
medizinisch bedeutsamsten Nieren-
krankheiten.
in: Schwiegk, H.
Handbuch der inneren Medizin
VIII/1, Springer, Berlin 1968,
S. 157-276
66. ZSCHOCH, H.
Die Herz- und Gefäßkrankheiten in
der Sektionsstatistik.
Ergebn. allg. Path. path. Anat.
47 (1966) 58-143

Dem Direktor der Kinderpoliklinik der Universität München, Herrn Professor Dr. H. Spiess, danke ich für die Überlassung des Themas und für die Arbeitsmöglichkeiten an seiner Klinik. \

Besonders herzlich danke ich Herrn Dr. C. E. Pilars de Pilar für die Anleitung bei der Arbeit und stete Hilfsbereitschaft.

Fräulein B. Jochner danke ich für ihre freundliche Hilfsbereitschaft.

LEBENS LAUF

Am 28. Dezember 1948 wurde ich als zweites Kind des Angestellten Franz Friedrich und seiner Ehefrau Maria, geb. Steinhofer, in Steinhof, Landkreis Passau geboren.

Von 1955 bis 1960 besuchte ich die Volksschule Kalten-
eck und anschließend das Adalbert-Stifter-Gymnasium in
Passau, wo ich im Juni 1969 die Reifeprüfung ablegte.
Im Wintersemester 1969/70 begann ich mein Medizin-
studium an der Ludwig-Maximilians-Universität in Mün-
chen. Hier legte ich im Sommer 1970 die naturwissenschaft-
liche Vorprüfung ab und 1972 die ärztliche Vorprüfung.
Nach dem Staatsexamen im Sommer 1975 trat ich im Oktober
1975 meine Medizinalassistentenstelle in Freyung an.

